ULTRASTRUKTUR DER RUMPFMUSKULATUR VON BRANCHIOSTOMA LANCEOLATUM

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften
der Abteilung für Biologie
an der
Ruhr-Universität Bochum

vorgelegt von

Kurt Grocki

Bochum 1981

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544708_0040

ULTRASTRUKTUR DER RUMPFMUSKULATUR VON *BRANCHIOSTOMA LANCEOLATUM*

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften
der Abteilung für Biologie
an der
Ruhr-Universität Bochum

vorgelegt von

Kurt Grocki

Bochum 1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1.	Einleitung	1
2.	Material und Methoden	9
2.1.	Standardpräparation	9
2.2.	Gefriersubstitution	10
2.3.	Tanninsäurefixierung	12
2.4.	Markerexperimente	13
2.4.1.	Ferritin	13
2.4.2.	Lanthan	13
2.5.	Serienschnitte	14
2.6.	Markham-Rotation	15
2.7.	Morphometrie	15
2.8.	Filament- und Mitochondrienanalysen	16
3.	Ergebnisse	18
3.1.	Vorbemerkungen zum Präparat	18
3.2.	Die tiefen Lamellen	19
3.2.1.	Das SR der tiefen Lamellen	20
3.2.2.	Die Kontaktzone zwischen SR-Vesikeln und Zellmembran	21
3.2.3.	Der Inhalt der SR-Vesikel	23
3.2.4.	Vesikel in der Kernumgebung	24
3.2.5.	Extrazelluläre Kanäle	24
3.3.	Die superfiziellen Lamellen	26
3.4.	Die intermediären Lamellen	28
3.5.	Markerexperimente	29
3.5.1.	Der extrazelluläre Raum	29
3.5.2.	Das sarkoplasmatische Retikulum	31
3.5.3.	Der intrazelluläre Raum	31
3.6.	Strukturelle Gradienten in der Rumpfmuskulatur	32

Seite

3. 7. Myosindichten 35
3. 8. Die laterale Oberfläche der Myotome 36
3. 9. Zellkontakte 37
3.10. Filamente und Mikrotubuli 38

4. Diskussion 40
4.1. Die elektromechanische Kopplung 40
4.1.1. Funktion der SR-Vesikel 40
4.1.2. Morphologie des SRs 41
4.1.3. Die Rolle der Füßchen in der elektromechanischen Kopplung 42
4.1.4. Morphologie der Kontaktzone zwischen SR und Zelloberfläche bei Branchiostoma 43
4.1.5. Elektrophysiologie der elektromechanischen Kopplung bei Branchiostoma 44
4.1.6. Extrazelluläre Kanäle 45
4.1.7. Zytoplasmatische Ausläufer 47
4.2. Markerexperimente 48
4.3. Struktur des SRs bei verschiedenen Typen von Muskellamellen 51
4.3.1. Das Volumen der SR-Vesikel 53
4.4. Myosindichten 54
4.5. Strukturelle Gradienten innerhalb der tiefen Lamellen 57
4.6. Mikrotubuli 58
4.7. Mikrofilamente 60

5. Zusammenfassung 61

6. Literaturverzeichnis 65

Anhang 74

1. EINLEITUNG

Die willkürlichen Bewegungen der Wirbeltiere werden durch ein enges Zusammenwirken zweier Gewebetypen gesteuert: der Nerven und der quergestreiften Skelettmuskeln.

Vom Zentralnervensystem ziehen efferente Nervenzellen, sogenannte Motoneurone, zu den Skelettmuskeln und bilden mit ihnen hochspezialisierte Membrankontakte aus. Mit Hilfe dieser "motorischen Endplatten" wird die Aktivität der Muskeln reguliert. Die Muskeln selbst bestehen aus zylindrischen Untereinheiten, den Muskelfasern, die in einer Matrix von Bindegewebe eingebettet sind. Die bei der Muskelaktivität benötigten Nährstoffe und der zum oxidativen Metabolismus benötigte Sauerstoff werden über ein weitverzweigtes Kapillarsystem der Blutgefäße an die Muskelfaser herangebracht.

Generell ist die quergestreifte Muskelfaser ein kompakter mehrkerniger Zellzylinder, der mehrere Zentimeter lang werden kann und einen Durchmesser von etwa 100 µm besitzt. Mit Hilfe von bindegewebigen Sehnen ist diese Faser am Skelett befestigt. Den größten Teil des Zellvolumens nehmen die kontraktilen Elemente der Muskelfaser ein, die Myofibrillen. Diese etwa 1 - 2 µm dicken Untereinheiten durchlaufen die Muskelfaser von Sehne zu Sehne und sind in der Regel unverzweigt. Sie bestehen aus regelmäßig hintereinandergeschalteten Einheiten von 2 - 3 µm Länge, den Sarkomeren. Alle Sarkomere sind gleich gebaut: Sie sind charakterisiert durch die dunkle zentrale A-Bande und die sich in Muskellängsrichtung anschließenden I-Banden. Begrenzt wird jedes Sarkomer durch die Z-Scheiben. In ihnen sind die dünnen Aktinfilamente miteinander vernetzt (vgl. KNAPPEIS & CARLSEN, 1962; FRANZINI-ARMSTRONG & PORTER, 1964c und KELLY, 1967b). Diese Filamente reichen von der Z-Scheibe bis in die A-Bande, wo sie sich mit den für diese Bande typischen Myosinfilamenten überlagern. Querschnitte durch diesen Überlappungsbereich zeigen, daß die beiden Filamentarten in einer charakteristischen

doppelt-hexagonalen Anordnung zueinander stehen. Innerhalb der Skelettmuskulatur ist das Verhältnis von Aktin zu Myosin stets 2 : 1. Ein weiterer wichtiger Baustein der Sarkomere ist die M-Linie. Sie verläuft genau in der Mitte der A-Bande. Nach KNAPPEIS und CARLSEN (1968) besteht die M-Linie aus mindestens drei Reihen paralleler Querbrücken, die die Myosinfilamente untereinander verbinden. Ihnen wird eine wichtige Rolle bei der Aufrechterhaltung der Filamentordnung zugeschrieben.

Die Sarkomere der einzelnen Fibrillen einer Zelle liegen in der Regel auf gleicher Höhe, so daß die Muskelfaser quergestreift erscheint.

Neben den Myofibrillen findet man innerhalb der Muskelzellen 2 Membransysteme, die eine entscheidende Rolle bei der Muskelaktivierung (elektromechanische Kopplung) spielen:

1. das transversale tubuläre System (T-System) und
2. das sarkoplasmatische Retikulum (SR).

Das T-System beginnt an der Oberfläche der Muskelzelle als Einstülpung der Zellmembran, steht mit benachbarten Caveolae in Verbindung (ZAMPIGHI et al., 1975) und durchsetzt in Form dünner Tubuli die gesamte Muskelfaser. Beim Froschmuskel, dem strukturell am besten untersuchten Präparat, verlaufen die T-Tubuli auf Höhe der Z-Scheiben und umschließen die Fibrillen ringförmig. Es gilt heute als erwiesen, daß die T-Tubuli der einzelnen Fibrillen miteinander in Verbindung stehen und so ein zusammenhängendes Maschenwerk von Kanälen bilden, das sich quer zur Muskellängsrichtung flach durch die Zelle erstreckt. Die so gebildeten "Etagen" von Tubuli stehen untereinander in Verbindung (PEACHEY & EISENBERG, 1975 und 1978).

Im Bereich der Myofibrillen nehmen diese extrazellulären Tubuli Kontakt mit dem sarkoplasmatischen Retikulum (SR) auf. Diese sogenannten Triadenkomplexe zeigen einen charakteristischen Aufbau: Den zentralen Teil der Dreierstruktur bildet ein

abgeflachter Kanal des T-Systems. Auf beiden Seiten liegen sackförmige Erweiterungen des SRs, die terminalen Zisternen, die dem Verlauf des T-Systems folgen. Zur Mitte des Sarkomers hin verjüngt sich die terminale Zisterne zu den sogenannten intermediären Zisternen, die sich in mehrere Arme aufteilen und in einen longitudinal ausgerichteten tubulären Anteil des SRs übergehen. In der Mitte der A-Bande verschmelzen diese Teile mit denen der gegenüberliegenden SR-Hälfte zum sogenannten "fenestrated collar", einem flachen mit runden "Fenstern" versehenen Bereich (vgl. PEACHEY, 1965).

Die beiden Membransysteme bilden die strukturelle Basis der elektromechanischen Kopplung der Muskelfasern. Die elektromechanische Kopplung umfaßt eine Abfolge von Schritten, die eine synchrone Kontraktion der Myofibrillen gewährleistet:

Die Aktivierung im Bereich der Motorischen Endplatte beginnt mit einer Depolarisation der Zellmembran, die sich als Aktionspotential über die Oberfläche der Muskelfaser fortsetzt. Diese Depolarisation wird von den T-Tubuli aufgenommen und regenerativ in das Innere der Muskelzelle geleitet. Im Bereich der Triade wird das Signal des T-Systems auf die terminalen Zisternen übertragen, die auf dieses Signal mit einer Ausschüttung des in ihrem Lumen gespeicherten Ca^{2+} reagieren. Durch die Ca^{2+}-Ausschüttung erhöht sich die Kalzium-Konzentration im Zytoplasma, die Myofilamente werden aktiviert, und es kommt zu einer Verkürzung des Muskels unter ATP-Verbrauch.

Ein wesentlicher Schritt in der elektromechanischen Kopplung ist die Signalübertragung vom T-System auf das sarkoplasmatische Retikulum. Dieser Schritt ist bis heute noch nicht gänzlich geklärt und soll deshalb an dieser Stelle ausführlicher dargestellt werden. Eingehende morphologische Untersuchungen an der Kontaktstelle zwischen T-System und SR haben das folgende Bild dieser spezialisierten Zone herauskristallisiert: Die Membranen des SR und des T-Systems sind durch einen cha-

rakteristischen etwa 10 - 15 nm breiten Spalt voneinander getrennt. Regelmäßig angeordnete "junctional feet" (Füßchen) überbrücken diesen Spalt und verbinden beide Membransysteme. Daß diese Füßchen an der elektromechanischen Kopplung beteiligt sind, wird heute allgemein akzeptiert; doch über ihre genaue Funktion herrscht noch Unklarheit. Zu den meistdiskutierten Theorien (vgl. MELZER, Dissertation 1980) gehört die Modellvorstellung von SCHNEIDER und CHANDLER (1973), daß durch Ladungsverschiebungen innerhalb der T-Systemmembran über eine mechanische Struktur, die sogenannten "rigid rods", Poren in der Membran des SRs geöffnet werden. Die morphologischen Äquivalente dieser "rigid rods" sehen die Autoren in den elektronendichten Füßchen der Triade. (Eingehende Übersichtsartikel über die elektrischen Vorgänge während der Muskelaktivierung finden sich bei: CAPUTO, 1978; FABIATO & FABIATO, 1977; LÜTTGAU & GLITSCH, 1976; LÜTTGAU & MOISESCU, 1978 und PODOLSKY, 1975).

Die beschriebenen morphologischen und physiologischen Vorstellungen basieren vorwiegend auf Untersuchungen an der Amphibienmuskulatur, deren Struktur aber im Prinzip mit den Gegebenheiten der schnellen Skelettmuskelfasern aller Wirbeltiere übereinstimmt. Es wird deshalb auch eine Ähnlichkeit in der Funktionsweise dieser Muskeln vermutet.

Es erschien daher reizvoll, einen quergestreiften Muskeltyp zu untersuchen, der in vielen charakteristischen Eigenschaften von diesen Prinzipien abweichen sollte, nämlich: den Rumpfmuskel des Lanzettfischchens Branchiostoma lanceolatum. Dieser ursprüngliche Chordat besitzt auf beiden Seiten des Körpers eine gut ausgebildete Rumpfmuskulatur, die in ca. 60 winklige Myotome gegliedert ist (s. Tafel 1). Die Myotome sind durch bindegewebige Septen "von offenbar sehnenartiger Leistung" (FRANZ, 1927) voneinander getrennt. FRANZ (1927) glaubte noch, daß das Lanzettfischchen motorische Nerven besitzt, die die

Rumpfmuskulatur innervieren. Es gilt aber heute als erwiesen, daß die Zellen der Bewegungsmuskulatur selbst lange, fadendünne Ausläufer bilden, die zum Neuralrohr ziehen und mit ihm synaptisch verschaltet sind (FLOOD, 1966). Ebenso ungewöhnlich ist die Versorgung der Myotome mit Blut. Das von der kontraktilen Endostylarterie in die Aorten gepumpte Blut gelangt über kurze Dorsalarterien in die Myotome. Hier flotiert es offenbar frei zwischen den Muskelzellen (FRANZ, 1927). Ein Kapillarsystem ist im Rumpfmuskel des Lanzettfischchens nicht ausgebildet.

Der Rumpfmuskel selbst setzt sich aus dünnen "Muskelplatten" zusammen (FRANZ, 1927), die radiär zur Chorda dorsalis angeordnet sind (vgl. Tafel 1 d). Die erste ultrastrukturelle Analyse dieser Muskeln (PEACHEY, 1961) zeigte, daß es sich bei jeder einzelnen Muskelplatte um eine individuelle Muskelzelle handelt. Diese Muskelzellen, die Lamellen, liegen parallel zueinander im Myotom. Besonders interessant ist die Tatsache, daß die Muskellamellen nur 1 - 2 µm dick sind, also nicht dikker als eine einzelne Muskelfibrille der Skelettmuskulatur höherer Wirbeltiere. Es ist deshalb nicht verwunderlich, daß die Membransysteme der Muskellamellen nur schwach ausgebildet sind, da die Diffusionswege durch die außergewöhnliche Struktur der Lamellen sehr kurz sind. FLOOD (1977) gibt sogar an, daß hier ein T-System gar nicht ausgebildet sei. Wie später gezeigt wird, konnten im Rahmen der vorliegenden Arbeit jedoch Hinweise auf die Existenz eines relativ einfachen T-Systems erbracht werden.

Den Gehalt der Lamellen an kontraktilen Elementen beschreibt Peachey als eine einzige Myofibrille, die als flache Platte den größten Teil des Zellkörpers einnimmt.

Sehr eingehend beschäftigte sich auch Flood (1968) mit der Ultrastruktur der Lanzettfischmuskulatur. Er konnte zeigen, daß

die Rumpfmuskulatur aus drei strukturell unterschiedlichen Zellarten besteht. Die Hauptmasse des Muskels bilden die sogenannten "deep" (tiefen) Lamellen, große flache Zellplatten von 1 - 2 µm Dicke. Sie erstrecken sich von der lateralen bis zur medialen Oberfläche der Myotome durch die gesamte Muskulatur hindurch. In der Peripherie der Myotome, d. h. an ihrer lateralen Oberfläche befindet sich eine andere kürzere Zellart, die gemäß ihrer Lage im Rumpfmuskel als "superfiziell" bezeichnet wird. Diese Zellgruppe ragt nicht mehr als 20 µm in das Gewebe des Rumpfmuskels hinein. Neben diesen zwei Zelltypen fand Flood noch eine Gruppe von Lamellen, die in ihrer Größe eine Zwischenstellung zwischen den tiefen und superfiziellen Lamellen einnimmt. Sie wird deshalb als intermediär bezeichnet.

Alle Zellen werden durch schmale Extrazellulärräume voneinander getrennt.

In Längsschnitten zeigen die Muskellamellen die für den quergestreiften Skelettmuskel typische Sarkomerstruktur. Im Gegensatz zu Peachey wies Flood viele einzelne Myofibrillen innerhalb einer Muskellamelle nach, die in der Regel in einer einzelnen Reihe nebeneinander in den Zellen liegen. Diese Myofibrillen umgibt ein dünner Plasmasaum, der u. a. Membranstrukturen enthält. Diese Membranen wurden zunächst für einfache Falten der Zellmembran gehalten (FLOOD, 1968). Erst im Jahre 1969 vermutete Flood in einer kurzen Mitteilung, daß es sich bei den beobachteten "Membranfalten" wohl um ein gering differenziertes sarkoplasmatisches Retikulum handele. Dieses System sollte sich aus einzelnen einfachen Vesikeln zusammensetzen.

Dieser Beschreibung widersprachen Hagiwara und Mitarbeiter (1971). Mit Hilfe von Tangentialschnitten durch die Muskellamellen belegten sie, daß das SR des Lanzettfischchens wie bei den höheren Vertebraten tubulär gestaltet ist, mit zister-

nenartigen Erweiterungen im Bereich der I-Bande und flachen Anteilen an der A-Bande.

Ihr Hauptaugenmerk galt jedoch der Funktion des sarkoplasmatischen Retikulums. Ihre elektrophysiologischen Befunde deuteten auf eine Funktion des SRs hin, die die Muskulatur des Lanzettfisches als wohl einzigartig im Tierreich erscheinen ließ. Nach ihrer Vorstellung fehlen bei Branchiostoma einige Schritte der elektromechanischen Kopplung, die üblicherweise bei der Skelettmuskulatur aller bisher untersuchten Tiere vorliegen:

- die Signalübermittlung durch ein T-System,
- die Signalübertragung auf das SR und
- die Ca^{2+}-Ausschüttung aus dem SR in den Intrazellulärraum.

Aufgrund ihrer Experimente nahmen sie an, daß die zur Kontraktion notwendige Ca^{2+}-Erhöhung im Intrazellulärraum, die für die Aktivierung der Myofilamente eine Voraussetzung ist, allein durch den Einstrom von extrazellulärem Ca^{2+} hervorgerufen wird. Danach wäre die Funktion des SRs der Muskellamellen darauf beschränkt, das eingeströmte Ca^{2+} zu resorbieren und wieder in den extrazellulären Raum auszuschleusen.

Im Jahre 1977 veröffentlichte Flood eine ausführliche Studie, in der er unter anderem mit Hilfe von Gefrierätzpräparaten Hinweise auf die von ihm angenommene vesikuläre Struktur des SRs der Muskellamellen vorlegte. Nach seinen Befunden ergibt sich folgendes Bild des SRs der Muskellamellen: Das sarkoplasmatische Retikulum besteht aus einzelnen membranumgebenen Vesikeln, die unmittelbar unter der Zellmembran liegen. Von ihnen befinden sich 80 % im Bereich der I-Bande; sie haben in der Regel ein relativ großes Volumen. Im Bereich der A-Bande liegen dagegen fast ausschließlich kleinere Vesikel. Insgesamt sind 20 % der Zellmembranoberfläche von SR bedeckt. Beide Membransysteme sind durch einen 11 nm breiten Spaltraum voneinan-

der getrennt, der durch "zufällig verteilte" elektronendichte Partikel überbrückt wird. Durch Fällungen des freien Ca^{2+} mit Hilfe von Na-Oxalat konnte Flood zusätzlich zeigen, daß zumindest die Vesikel im Bereich der I-Bande in der Lage sind, Ca^{2+} zu speichern.

Die Widersprüche bezüglich der Struktur des sarkoplasmatischen Retikulums und die Hypothese von Hagiwara und Mitarbeitern (1972) über eine zumindest für quergestreifte Skelettmuskeln ungewöhnliche Art der elektromechanischen Kopplung ließen es interessant erscheinen, die Rumpfmuskulatur des Lanzettfischchens in morphologischer und elektrophysiologischer Hinsicht genauer zu untersuchen.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich vorwiegend mit der Ultrastruktur der Muskellamellen unter dem Gesichtspunkt der elektromechanischen Kopplung und zieht im Rahmen der Diskussion morphologische Daten von Muskeltypen hinzu, über die genauere Informationen zur elektromechanischen Kopplung vorliegen. Die elektrophysiologischen Experimente wurden von Melzer durchgeführt und beschrieben (MELZER, 1980). Sie werden im Rahmen dieser Arbeit als Diskussionsgrundlage benutzt.

Im Laufe der morphologischen Untersuchungen konnten drei strukturell unterschiedliche SR-Systeme entdeckt werden, die jeweils einem Zelltyp zugeordnet werden konnten. Es wird außerdem bewiesen, daß die Kontaktzone zwischen den SR-Vesikeln und der Zellmembran in ihrer Struktur der Triade bei den Vertebraten gleicht und daß zumindest in den tiefen Muskellamellen ein schwach entwickeltes transversales Kanalsystem ausgebildet ist.

Ein Teil der Ergebnisse dieser Arbeit wurde bereits veröffentlicht: GROCKI & MELZER, 1978, MELZER & GROCKI, 1980.

2. MATERIAL UND METHODEN

Die Struktur der segmentierten Rumpfmuskulatur des Lanzettfischchens (Branchiostoma lanceolatum) wurde licht- und elektronenmikroskopisch untersucht. Die verwendeten Tiere stammten alle aus der Nordsee vor Helgoland. Sie wurden bis zur Präparation bei 10° C in Seewasseraquarien mit "Amphioxussand" gehalten.

Es wurden sowohl ganze Tiere als auch isolierte Rumpfmuskeln präpariert. Zur Ganztierfixierung wurden die Lanzettfischchen mit Hilfe von Insektennadeln in Silikonformen festgesteckt und mit dem Fixiergemisch übergossen. Die Verwendung von ganzen Tieren brachte Vorteile bei der Bestimmung der natürlichen Sarkomerlängen und vereinfachte den Vergleich zwischen lateraler und medialer Oberfläche der Myotome. Diese Methode verringerte außerdem die Gefahr der Gewebszerstörung bei der Präparation.

Bei isolierten Muskelpräparaten (vgl. MELZER, 1980) war dagegen das Eindringen der Badflüssigkeiten erleichtert, weil die hemmenden Epithelien zum größten Teil entfernt worden waren. Die verwendeten Fixiergemische und die Markiersubstanzen (s.u.) drangen so schneller und gleichmäßiger in das Gewebe ein, so daß die Gefahr von Diffusionsgradienten vermindert wurde. Solche Muskelpräparate dienten unter anderem der Kontrolle von Beobachtungen, die am ganzen Tier gemacht worden waren.

2.1. Standardpräparation

Zur licht- und elektronenmikroskopischen Aufbereitung der Rumpfmuskulatur wurden die Präparate in 5 %igem Glutaraldehyd chemisch fixiert. Die Lösung war mit Na-Cacodylat (0,8 %ig) bei pH 7.2 gepuffert. Durch den Zusatz von Saccharose wurde die Tonizität des Fixiergemisches an die des Meerwassers an-

geglichen. Nach 1.2 bis 1 h Vorfixierung wurden die Präparate in ca. 2 mm lange Stückchen geschnitten und danach für 15 bis 16 h in Glutaraldehyd belassen. Anschließend wurden die Gewebsstückchen in Na-Cacodylat gepuffertem 1 %igem OsO_4 für 3 - 4 h nachfixiert. Entwässert wurde in einer aufsteigenden Alkoholreihe. Das entwässerte Präparat wurde eine halbe Stunde in Propylenoxid als Intermedium äquilibriert und in ein Lösungsgemisch überführt, das sich zu gleichen Teilen aus dem Intermedium und dem Einbettungsmittel Epon 812 zusammensetzte. Über Nacht dampfte das leicht flüchtige Propylenoxid ab, und das Gewebe wurde vollständig vom Epon durchsetzt. Am folgenden Tag wurden die Muskelstücke in Flacheinbettungsformen gelegt und unter dem Binokular in die gewünschte Lage gebracht. Die Formen wurden mit Epon gefüllt, das anschließend im Wärmeschrank bei 60° C innerhalb von 1 - 2 Tagen aushärtete.

Zur lichtmikroskopischen Untersuchung wurden Gewebsteile mit einem Reichert Ultramikrotom semi-dünn geschnitten (Dicke der Schnitte etwa 1 - 2 µm) und mit Methylenblau und basischem Fuchsin gefärbt.

Für die Elektronenmikroskopie wurden mit Glas- und Diamantmessern Dünnschnitte von 60 - 80 nm Dicke hergestellt und mit Uranylacetat und Bleicitrat kontrastiert. In einigen Fällen wurden auch unkontrastierte Schnitte untersucht (s. Markerexperimente).

2.2. Gefriersubstitution

Die chemische Fixierung in Glutaraldehyd und die anschließende Entwässerung werden von einer Reihe nur schwer kontrollierbarer Veränderungen des zellulären Gefüges begleitet. Biologisches Gewebe schrumpft z. B. bei der Vorbereitung für das Elektronenmikroskop erheblich (vgl.: Diskussion). Um Artefakte dieser Art zu umgehen, wurde der Rumpfmuskel von Branchiostoma in einigen Versuchen "gefriersubstituiert". Diese Art der Gewebsaufberei-

tung besteht im Prinzip darin, das lebende Material möglichst rasch tiefzufrieren und im gefrorenen Zustand zu entwässern (vgl.: STEINBRECHT, 1976, 1980). Dadurch werden die Zellen und ihre Organellen augenblicklich in ihrer Lage und Struktur fixiert. Noch im gefrorenen Zustand wird das Zellwasser gegen das Entwässerungsmittel ausgetauscht, so daß die Zellstruktur nicht verändert wird. Der Nachteil dieser Methode ist, daß selbst unter günstigen Bedingungen nur eine Schicht von etwa 10 - 15 µm Dicke an der Oberfläche des Gewebes eine einwandfreie Fixierung zeigt (FRANZINI-ARMSTRONG; HEUSER; REESE; SOMLYO & SOMLYO, 1978 und STEINBRECHT, 1976, 1980). Der Rest des Gewebes wird durch Gefrierartefakte wie z. B. Entmischungsphänomene des Zytoplasmas zerstört, da hier die Temperatur nicht mehr schockartig absinkt.

Da der Rumpfmuskel des Lanzettfischchens unter einer relativ dicken Lage von Epithel und Bindegewebe liegt (vgl. Tafel 1), wurde diese Hülle vor dem Gefrieren so weit wie möglich entfernt (zur genauen Darstellung der Präparationstechnik s. MELZER, 1977). Da die Bildung der Entmischungsartefakte von der Dauer des Gefriervorgangs abhängt, wurden verschiedene Methoden versucht, das Gewebe möglichst schnell tiefzufrieren: 1. in flüssigem Stickstoff, 2. auf einem gekühlten (-190° C) Metallblock, 3. in Freon 25 (-190° C) und 4. in flüssigem Propan. Das verwendete Material war in einigen Experimenten nicht vorbehandelt, in anderen war es mit Glutaraldehyd oder einer Kombination aus einer Glutaraldehyd-Vorfixierung und einer OsO_4-Nachbehandlung vorfixiert. Die Glutaraldehyd-Vorbehandlung wurde vorgenommen, da bekannt ist, daß diese Substanz bei Gefrierätzungen zum Beispiel von Muskelgewebe (s. z. B. EDELMANN & MORGENSTERN, 1979) die Bildung von Gefrierartefakten hemmt.

Befriedigende Ergebnisse lieferte eine Kombination, bei der in Glutaraldehyd- und OsO_4-fixiertes Gewebe in flüssigem Propan eingefroren wurde. Gehäutete isolierte Rumpfmuskeln wurden 1 h in 5 % Glutaraldehyd fixiert und anschließend in Streifen von 1 - 2 mm Breite und 5 mm Länge geschnitten. Für einen Zeitraum von 2 - 3 h wurde in Glutaraldehyd nachfixiert. Die anschließende OsO_4-Fixierung (1 %ig) dauerte 1 h. Beide Lösungen waren mit Na-Cacodylat bei pH 7.2 gepuffert. Die ausfixierten Muskelstreifen wurden mit Hilfe von Minutienstiften in Silikonformen festgesteckt und 1 h lang in Pufferlösung "gewaschen". Dann wurden die Präparate, noch an den Stiftchen hängend, in das mit flüssigem Stickstoff gekühlte Propan getaucht. Dies mußte schlagartig geschehen, damit das Gewebe rasch und gleichmäßig gefror. Nach 7 sec Gefrierzeit wurden die Muskelstücke in kaltes Aceton (-78° C) überführt. In dieser Flüssigkeit wurde das Gewebe für 7 Tage bei konstanter Temperatur entwässert. Nach langsamer Erwärmung der Präparate auf Zimmertemperatur wurden die Muskelstreifen weiter zerkleinert und auf die übliche Weise für die Elektronenmikroskopie eingebettet.

2.3. Tanninsäurefixierung

Die Tanninsäurefixierung ist bekannt dafür, daß sie membranöse Strukturen differenzierter darstellt als die Aldehydfixierung. Sie wurde daher benutzt, um die Kontaktregion zwischen SR-Vesikeln und Zellmembran und die unter Standardbedingungen elektronendicht erscheinenden "junctional feet", die Füßchen, deutlicher darzustellen.

Die besten Ergebnisse wurden erzielt bei einer aufeinanderfolgenden Behandlung der Muskeln mit 5 % Glutaraldehyd (2 h), 1 % OsO_4 (1.5 h) und einer frisch angesetzten 1 %igen Tanninsäurelösung. Es war wichtig, die Tanninsäurelösung erst unmittelbar vor dem Experiment anzusetzen, weil sich der pH-Wert

der Lösung mit der Zeit veränderte. Alle Lösungen waren mit Na-Cacodylat auf pH 7.2 gepuffert. Nach der Fixierung wurden die Muskelstücke 1.5 h lang in einer wässrigen gesättigten Lösung von Uranylacetat "en bloc" kontrastiert. Wie bereits von SOMLYO (1979) geschildert, zeigten in der Regel nur periphere Teile der Gewebsstücke eine gute Fixierung der Membransysteme. Das Kriterium war dabei die Darstellung der Zell- und Endomembranen als typische Einheitsmembran. Strukturanalysen wurden auf diese gut fixierten Areale beschränkt.

2.4. Markerexperimente

2.4.1. Ferritin

Ferritin aus der Pferdemilz (Serva) wurde durch mehrfaches Waschen in Seewasserlösung gereinigt und bei 80 000 g in der Ultrazentrifuge sedimentiert. Die Endkonzentration des Markers war 35 g/100 g Seewasser. Muskelstücke wurden dieser Lösung für 3 - 4 h ausgesetzt und anschließend für die Elektronenmikroskopie mit Glutaraldehyd und OsO_4 fixiert. Die weitere Behandlung entsprach der Standardmethode.

2.4.2. Lanthan

Lanthan wurde in kolloidaler und ionaler Form angewendet. Muskelstückchen wurden 3 - 4 h in einer 0.5 - 1 %igen, Tris-gepufferten Lanthanchlorid-Lösung inkubiert. Der pH-Wert wurde mit NaOH bzw. HCl auf 7.8 - 8 (zur Bildung der kolloidalen Form nach REVEL und KARNOVSKY, 1967) oder auf pH 7.3 (für die ionale Form) eingestellt.

Zur Identifikation der Markiersubstanzen im elektronenmikroskopischen Bild wurden neben den mit Uranylacetat und Bleicitrat kontrastierten Schnitten auch "en bloc" kontrastierte und unkontrastierte Präparate untersucht.

2.5. Serienschnitte

Von dem Muskelpräparat eines erwachsenen Lanzettfisches wurden auf Höhe des Darmrohres zwischen dem 26. und 28. Myotom Serienschnitte angefertigt. Zunächst wurde das Areal lichtmikroskopisch auf seine Fixierqualität überprüft und ein Bereich nahe der lateralen Oberfläche der Myotome ausgewählt. Die Schnittfläche des Eponblöckchens wurde trapezförmig zugeschnitten, so daß unter anderem die Orientierung bei der mikroskopischen Betrachtung der Einzelschnitte erleichtert wurde.

Mit dem Ultramikrotom wurden möglichst lange Ketten aneinanderhängender Schnitte von gleicher Dicke hergestellt. Mit Hilfe feiner, an Holzstäbchen befestigter Meerschweinchenhaare wurden Gruppen von je 2 - 3 Schnitten von dieser Kette gelöst und auf einen Lochobjektträger gebracht. Die Verwendung von Lochobjektträgern an Stelle der sonst üblichen Gitterobjektträger gewährleistete, daß stets die Schnitte im Ganzen sichtbar waren, eine für die Analyse von Serienschnitten notwendige Voraussetzung. Der Nachteil dieser Objektträger besteht darin, daß bei leichten Beschädigungen der durchsichtigen Trägermembranen meist die Schnitte auf dem Objektträger unbrauchbar werden. Sämtliche Schnitte wurden daher sofort bei 5000facher Vergrößerung fotografiert. Als Orientierungshilfe diente dabei der markante Bereich einer Doppelfibrille in einer Muskellamelle. Die Papiervergrößerungen wurden entsprechend der Reihenfolge der Schnitte sortiert und auf die räumliche Form der Zellen und ihrer Organellen hin ausgewertet. Mit 34 der insgesamt 70 Schnitte quer zur Muskellängsrichtung war die Distanz von einem Sarkomer zurückgelegt. Das entspricht bei einer Sarkomerlänge von 2.1 µm, wie sie in einem Längsschnitt ausgemessen wurde, einer durchschnittlichen Schnittdicke von 62.5 nm.

2.6. Markham-Rotation

Die Rotation nach Markham und Mitarbeitern (1963) ist eine Methode, durch die periodische punktsymmetrische Strukturen optisch verstärkt werden und die Zahl der Periodizitäten und damit die Symmetriewinkel deutlich werden. Bei der Muskulatur von Branchiostoma wurden vor allem die Füßchen im Bereich der Kontaktzone zwischen SR-Vesikeln und Zellmembran mit Hilfe dieser Methodik untersucht.

Die Analyse des Materials nach der Methode von Markham geschah in der Dunkelkammer. Dazu war es erforderlich, unbelichtetes Fotopapier unter dem Projektionsgerät mehrmals um einen Winkel von 90, 60 oder 45° zu drehen und belichten. Die Drehachse durfte sich dabei nicht verschieben.

Um die Rotationswinkel genau einhalten zu können, wurden entsprechende Schablonen auf einer schweren Holzplatte befestigt. Der Mittelpunkt der Schablone war der Drehpunkt der Markham-Rotation und wurde mit einer Insektennadel markiert. Die Nadel wurde in der Dunkelkammer mitsamt der Holzplatte und der Schablone so in den Strahlengang der Projektion der Füßchen gebracht, daß sie im Zentrum eines Füßchens zu liegen kam. Das über den Stift gesteckte Fotopapier wurde gemäß der Symmetriewinkel gedreht und belichtet.

2.7. Morphometrie

Morphometrische Analysen wurden an licht- und elektronenmikroskopischen Bildern durchgeführt. Ein Myotom aus der Körpermitte eines adulten Lanzettfischchens wurde an unterschiedlichen Stellen quer zur Längsrichtung der Muskelzellen geschnitten. Die Präparate wurden unter dem Lichtmikroskop fotografiert, und es wurden Papiervergrößerungen davon angefertigt. Aus den Vergrößerungen wurden die superfiziellen Muskellamellen ausge-

schnitten und ausgewogen. Der Anteil dieser Ausschnitte am Gesamtpapiergewicht entsprach dem Prozentsatz, den die superfiziellen Zellen zum Volumen des Myotoms beitragen.

Durch die elektronische Analyse (MOP-AM-Analyser) von elektronenmikroskopischen Bildern derselben Präparate sollten zwei Fragen geklärt werden: 1. Wie groß ist der prozentuale Anteil des extrazellulären Raums am Muskelgewebe? 2. Welches Volumen, bezogen auf das Gesamtvolumen der Muskellamelle, nehmen die Vesikel des sarkoplasmatischen Retikulums ein?

Die Bilder, die miteinander verglichen werden sollten, wurden in einem Arbeitsgang am Elektronenmikroskop bei 10 000-facher Festvergrößerung aufgenommen und bei fester Einstellung des fotografischen Gerätes auf 41 200-fach endvergrößert. Diese Bilder wurden auf eine spezielle Platte des Auswertgerätes gelegt, und die zu untersuchenden Strukturen wurden mit Hilfe eines Induktionsstiftes umfahren. Der an den Stift und die Grundplatte angeschlossene Rechner der Anlage errechnete aus den so gewonnenen Werten den Umfang und den Flächeninhalt der entsprechenden Struktur.

An der lateralen Oberfläche, im Mittelteil und an der medialen Oberfläche der Myotome wurde der Flächenanteil der extrazellulären Spalten und der SR-Vesikel der tiefen Lamellen ausgemessen.

2.8. Filament- und Mitochondrienanalysen

Der Myosin- und Aktingehalt der superfiziellen, intermediären und tiefen Lamellen wurde in Querschnitten der Myofibrillen ausgezählt. Bevorzugt wurden dabei Querschnitte durch die M-Linie bzw. in der Nähe der Z-Scheibe, da hier der hohe Ordnungszustand der Filamente eine geringere Streuung der Meßwerte versprach. Auf der Fotografie wurde jeweils ein Areal

von 2 cm^2 ausgezählt. Das entsprach bei einer Endvergrößerung von 41 200-fach einer tatsächlichen Fläche von 0.12 μm^2. Insgesamt wurden 28 tiefe, 18 intermediäre und 9 superfizielle Lamellen in dieser Hinsicht ausgewertet. Sämtliche Zellen stammten aus der Peripherie der Rumpfmuskulatur. Zusätzlich wurde der Myosingehalt von 30 tiefen Lamellen im Zentrum des Myotoms und an seiner medialen Oberfläche ausgemessen. In diesen Bereichen wurde gleichzeitig der Mitochondriengehalt bestimmt.

Längsschnitte von der Peripherie und der Basis der Lamellen dienten zum Vergleich der A-Bandenlängen und des Kontraktionszustandes der Myofibrillen.

3. E R G E B N I S S E

3.1. Vorbemerkungen zum Präparat

Nach der klassischen Vorstellung (vgl. KÜKENTHAL, MATTHES & RENNER, 1971; FECHTER, 1971 und FRANZ, 1927) ist der Rumpfmuskel von Branchiostoma wie die Bewegungsmuskulatur der höheren Fische segmental gegliedert. Auf jeder Seite des Rumpfes sind bei einem erwachsenen Tier etwa 60 winklige Myotome ausgebildet (vgl. auch Einleitung, Seite 4 und Tafel 1), die durch bindegewebige Myosepten voneinander getrennt sind. Nach außen hin wird die Muskulatur durch eine derbe Schicht bindegewebigen Materials, die Cutis, geschützt, auf der das einschichtige kubische Epithel liegt, das für das Lanzettfischchen charakteristisch ist. Auf der Seite, die dem Peribranchialraum zugewendet ist, liegt ebenfalls unter einer Lage von Epithelzellen eine weniger ausgeprägte Schicht Bindegewebe. Die Myotome sind also von allen Seiten von Bindegewebe umgeben.

Der kontraktile Teil der Myotome besteht aus zwei makroskopisch unterscheidbaren Muskelkomponenten, dem in vivo gelblich gefärbten und leicht verletzlichen Rectus abdominis (zur Nomenklatur siehe PEACHEY, 1961) und dem weißen Rumpfmuskel. Der Rectus abdominis liegt im unteren Schenkel der Myotome auf der Seite des Peribranchialraums. Die Grenze zwischen dem Rectus abdominis und dem Rumpfmuskel bildet eine dünne Struktur, die im Elektronenmikroskop als basale Ausläufer der Muskelzellen zum Neuralrohr zu erkennen ist. Beide Muskeltypen bestehen aus charakteristischen Muskellamellen, die jedoch in unterschiedliche Richtungen verlaufen: Während die Muskellamellen des Rumpfmuskels im quergeschnittenen Tier radial zur Chorda dorsalis ausgerichtet sind, erstrecken sich die Lamellen des Rectus abdominis mehr dorso-ventral (vgl. Tafel 1d). Im untersten Teil der Schenkel ist die Ausrichtung der Lamellen beider Muskeltypen nahezu senkrecht zueinander.

In der vorliegenden Arbeit wurde nur die Ultrastruktur des Rumpfmuskels eingehend untersucht.

3.2. Die tiefen Lamellen

Wie einleitend schon erwähnt, besteht der Rumpfmuskel aus drei unterschiedlichen Gruppen von Muskellamellen, die im folgenden nach Flood (1968) als deep (tief), superfiziell und intermediär bezeichnet werden. Den Hauptanteil des Rumpfmuskels bilden dabei die tiefen Muskellamellen.

Charakteristisch für Muskelzellen im allgemeinen ist nach der heutigen Auffassung das Vorhandensein von Myofibrillen und eines sarkoplasmatischen Retikulums. Beide Zellbestandteile existieren zwar in den Muskellamellen des Lanzettfischchens, jedoch bestehen unterschiedliche Auffassungen über die Struktur dieser Komponenten (vgl. Einleitung S. 5 - 6).

Nach eigenen Experimenten sind die größten Muskelzellen die tiefen Lamellen. Sie erstrecken sich von der lateralen bis zur medialen Oberfläche der Myotome durch den gesamten Rumpfmuskel hindurch. Im Gegensatz zu Peachey (1961) und in Übereinstimmung mit den Resultaten von Flood (1968, 1977) wurden im intrazellulären Raum dieser Muskelplatten eine Reihe im Querschnitt länglich ovaler Myofibrillen gefunden, die in der Regel nebeneinander lagen (Tafel 14a und 20). Jede tiefe Lamelle wird demnach gebildet durch eine Einzelreihe dieser Myofibrillen, die durch Zytoplasmabrücken miteinander verbunden sind (Tafel 20 und 25a). Jede Fibrille wird von einem schmalen Zytoplasmasaum umgeben, der in der Regel unmittelbar unter dem Sarkolemma liegt. In diesem Zytoplasmasaum findet man neben Mitochondrien und Glykogenpartikeln das sarkoplasmatische Retikulum dieser Zellen.

3.2.1. Das SR der tiefen Muskellamellen

Über die Struktur des SRs der Muskellamellen von Branchiostoma gibt es, wie erwähnt (Seite 6), zwei unterschiedliche Modellvorstellungen: 1. Flood (1969 und 1977) und Henkart et al. (1976) fanden in den Muskellamellen ein rein vesikuläres SR. 2. Hagiwara und Mitarbeiter (1971) beschreiben ein kontinuierliches tubuläres sarkoplasmatisches Retikulum, das die Myofibrillen wie ein Netz umgibt.

Eigene Präparate zeigten bei unterschiedlicher Vorbehandlung (s.: Material und Methoden) immer das gleiche Strukturprinzip des SRs der tiefen Lamellen: Im Sarkoplasma findet man in der Regel unmittelbar zwischen Zellmembran und Myofibrillen Anschnitte dieses Membransystems. Sowohl in Längs- als auch in Querschnitten der Muskellamellen haben diese Anschnitte ungefähr die gleiche Form: Sie sind rundlich bis elliptisch. Tubuläre Anschnitte des SRs wurden nicht gefunden. Diese Anschnitte besitzen einen unterschiedlichen Durchmesser, und ihre Verteilung steht in einem engen Bezug zur Sarkomerstruktur der Myofibrillen. SR-Zisternen mit großem Volumen findet man fast ausschließlich im Bereich der I-Bande. Diese Zisternen sind meist abgeflacht und elliptisch geformt (Tafel 2, 3, 6 15a). Im Bereich der A-Bande findet man kleine meist runde Anschnitte des SRs (Tafel 2).

Serien- und Tangentialschnitte durch die tiefen Lamellen (Tafel 6 bzw. Tafel 8) unterstützen eindeutig die Vesikelhypothese von Flood (1969 und 1977) und Henkart et al. (1976). Tangentialschnitte, wie sie in Tafel 8 zu sehen sind, zeigten, daß die Komponenten des SRs kleinen Bällen oder Vesikeln ähneln, die nebeneinander im Zytoplasma liegen. Es sind deutlich zwei Verteilungen zu unterscheiden: In der Nähe der I-Banden sieht man Reihen dicht nebeneinander liegender großlumiger Ve-

sikel und an der A-Bande einen lockeren Verband kleiner SR-Strukturen.

Serienschnitte, in denen der Verlauf und die Struktur von 50 SR-Vesikeln eingehend untersucht wurde, belegten, daß die SR-Vesikel strukturell voneinander isoliert sind, d. h. es konnte bewiesen werden, daß Vesikel keine Verbindung untereinander besitzen.

3.2.2. Die Kontaktzone zwischen SR-Vesikeln und Zellmembran

Die unmittelbar unterhalb der Zellmembran liegenden SR-Vesikel berühren die Zellmembran der Muskellamellen nie direkt, sondern sie sind durch einen regelmäßigen Spaltraum, den "junctional gap" oder Kontaktspalt, voneinander getrennt. Im Bereich dieses Kontaktspalts verlaufen die Membranen von SR und Sarkolemma parallel mit einem Abstand von 11 nm (vgl. auch FLOOD, 1977). Die Kontaktregion wird durch regelmäßig angeordnete elektronendichte Strukturen überbrückt, die den "junctional feet", den Füßchen der Vertebratentriade, gleichen (Tafel 3). Diese Strukturen sind beim Lanzettfischchen im Muskelquerschnitt 34 - 37 nm weit voneinander entfernt, wobei der Abstand von Zentrum zu Zentrum der jeweiligen Füßchen gemessen wurde. Der Durchmesser dieser Strukturen beträgt 20 nm.

Häufig war anstelle der Füßchen eine dünne parallele Linie zu sehen, die genau in der Mitte des Spaltraumes verlief und regelmäßige Unterbrechungen zeigte (Tafel 3d). Eine ähnliche Struktur wurde von Franzini-Armstrong (1974 und 1975) und Nunzi et al. (1979) als typisches Erscheinungsbild der Füßchen bei Vertebraten beschrieben.

weitere Übereinstimmungen von Vertebraten- und Branchiostoma-Füßchen konnten bezüglich ihrer Substruktur gefunden werden: Die meist kompakt erscheinenden Füßchen zeigten im Standardmaterial und in gefriersubstituiertem Gewebe oft eine helle Achse, wie sie von Eisenberg und Gilai (1979) und Nunzi et al. (1979) beschrieben wurde. Diese Achse erstreckt sich bei Branchiostoma vom SR zum Sarkolemma, ohne jedoch deren Membranen zu durchbrechen (Tafel 3c).

Tangentialschnitte durch den Diadenkomplex von Zellmembran und SR zeigten neben einem hier nur schwach sichtbaren hellen Zentrum der Füßchen vor allem die regelmäßige Anordnung der elektronendichten Membrankontakte. Bis zu 4 parallele Reihen von Füßchen wurden gefunden (Tafel 4), während in der Vertebratenmuskulatur meist nur eine Doppelreihe vorliegt (s. FRANZINI-ARMSTRONG, 1970a, b, 1972 und 1975). Die Füßchen der einzelnen Reihen stehen nebeneinander und bilden so ein tetragonales Muster. Diese quadratische Anordnung wurde mit Hilfe einer 4-, 6-und 8-fachen Markham-Rotation (MARKHAM und Mitarbeiter, 1963) überprüft (Tafel 4d - f). Die Rotation um 4 x 90° zeigte dabei das eindeutigste und klarste Muster. Die 6- und 8-fachen Drehungen dagegen bewirkten nur diffuse radiäre Überlagerungen. Der Abstand der 4-fach rotierten Füßchen betrug 34 nm und entsprach somit gut den Werten aus den Muskelquerschnitten (s.o.).

Mit Tanninsäure behandeltes Gewebe zeigte ein vom Standard- und Gefriersubstitutionsmaterial abweichendes Bild des Kontaktspalts und der Füßchen: Mit durchschnittlich 15 nm war der trennende Spalt zwischen SR und Sarkolemna um 4 nm erweitert. Die verbindenden Füßchen waren entsprechend verlängert (Tafel 4b). Zusätzlich war ihr Durchmesser um etwa 10 nm kleiner. Ähnliche Bildungen hatte Somlyo (1978 und 1979) für Muskelgewebe von Vertebraten beschrieben. Die nach der Tanninsäurebehandlung von Somlyo beobachteten "pillars" sind in ihrer Form und Größe ähnlich den Tannin-behandelten Füßchen bei Branchiostoma, doch

konnte beim Lanzettfischchen nicht die für die "pillars" charakteristische helle Achse beobachtet werden (wohl aber im Standardpräparat und nach der Gefriersubstitution; s. S. 22).

3.2.3. Der Inhalt der SR-Vesikel

Der Inhalt der SR-Vesikel bei Branchiostoma wurde schon von Flood (1977) mit Hilfe der Röntgenabsorbtionsspektroskopie eingehend untersucht. Er konnte u. a. zeigen, daß in den Vesikeln Kalzium angehäuft ist.

Im Elektronenmikroskop wurden unter allen drei genannten Bedingungen (s. o.) sowohl diffuses granuläres Material als auch scharf abgegrenzte elektronendichte Grana gefunden (Tafel 2a, 3d). In Serienschnitten konnte ein direkter Bezug zwischen der Vesikelgröße und dem Auftreten solcher Grana gefunden werden. Nur die großen Vesikel im I-Banden-Bereich enthielten eine derartige Struktur. In den 50 Vesikeln, die in der Schnittserie ausgewertet wurden, besaßen alle größeren Vesikel ein einziges dieser Grana. Die kleinen Vesikel an der A-Bande waren generell leer.

Das diffuse Material in den Zisternen des SRs lag als lockere Schicht gegenüber der Kontaktzone zwischen SR und Sarkolemma (Tafel 3f). Diese Schicht wurde durch einen schmalen Spalt von der SR-Membran getrennt. Während die oben beschriebenen scharf abgegrenzten Grana für die Skelettmuskulatur der Wirbeltiere untypisch sind, ähnelt das granuläre Material innerhalb des SRs dem Inhalt der terminalen Zisternen der Vertebratentriade (vgl. SOMLYO, 1979).

3.2.4. Vesikel in der Kernumgebung

Membranumgebene Vesikel findet man nicht nur im Zytoplasma zwischen Myofibrillen und Sarkolemma, sondern auch in der unmittelbaren Umgebung der Zellkerne der Lamellen (s. Tafel 5 und 21). Hier liegen zum Teil erhebliche Mengen unterschiedlicher Vesikel, von denen der größte Teil wohl dem sarkoplasmatischen Retikulum zugeordnet werden muß; denn sie entsprechen in ihrer Größe und Form den SR-Vesikeln. Sie enthalten auch zum Teil die für das SR der Muskellamellen charakteristischen elektronendichten Grana. Verbindungen dieser Vesikel zur Doppelmembran der Kernhülle, wie sie von Peachey (1965) und Franzini-Armstrong und Porter (1964a) für das SR der höheren Vertebraten beschrieben wurde, konnten bei Branchiostoma nicht gesehen werden.

Weiterhin liegen in unmittelbarer Umgebung der Kerne Lysosomen, Bruchstücke von Myofibrillen, extrafibrilläre Filamente und Mikrotubuli (Tafel 5).

3.2.5. Extrazelluläre Kanäle

Extrazelluläre Kanäle ähnlich dem tubulären transversalen System (T-System) der Vertebratenmuskulatur sind in der Rumpfmuskulatur von Branchiostoma bisher nicht nachgewiesen worden; Flood (1977) bestritt ihre Existenz ausdrücklich. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden jedoch entgegen allen Erwartungen Kanäle innerhalb der tiefen Rumpfmuskelzellen gefunden, deren Lumen mit dem Extrazellulärraum in Verbindung steht. Es können zwei Arten von Membraneinstülpungen unterschieden werden: 1. Kanäle, die in die Muskellamellen eindringen und auf der gegenüberliegenden Seite wieder in den extrazellulären Raum münden (ein solcher Kanal ist in Tafel 6 dargestellt), 2. extrazelluläre Tubuli, die blind im Inneren der Lamellen

enden (vgl. Tafel 7). Allen Kanälen gemeinsam ist eine Öffnung, die in ihrer Form der Mündung des T-Systems gleicht, so wie sie bei höheren Fischen ausgebildet ist (FRANZINI-ARMSTRONG & PORTER, 1964a, b und FRANZINI-ARMSTRONG, 1964 und 1973a). Sie öffnen sich trichterförmig direkt in den extrazellulären Raum. Hinter der Mündung verjüngen sie sich rasch zu intrazellulären Kanälen, die zwischen den Myofibrillen verlaufen und Kontakt mit dem sarkoplasmatischen Retikulum aufnehmen. Diese Kontaktstellen zwischen SR und extrazellulärem Kanal zeigen alle für den Diadenkomplex zwischen SR und Zellmembran charakteristischen Merkmale: Kanal und SR werden getrennt durch einen typischen Kontaktspalt. Dieser Spalt wird überbrückt durch regelmäßig angeordnete elektronendichte Füßchen.

Im Gegensatz zu dem T-System der höheren Fische sind die extrazellulären Kanälchen bei Branchiostoma nur wenige Mikrometer lang, jedoch erstrecken sie sich wie jene senkrecht zur Muskellängsachse und werden in enger Beziehung zur Sarkomerstruktur der Myofibrillen gefunden. In Tafel 7d sieht man einen Tangentialschnitt durch eine tiefe Lamelle und einige quergeschnittene extrazelluläre Kanäle. Deutlich ist die enge Beziehung zwischen den Tubuli und der Sarkomerstruktur zu erkennen: Vorwiegend im Bereich der I-Bande findet man diese Einstülpungen der Zellmembran. Sie sind von vielen SR-Vesikeln umgeben. Eine Ausrichtung dieser Vesikel ähnlich der Anordnung der terminalen Zisternen der Vertebratentriade konnte nicht gefunden werden, vielmehr scheinen sie sich in alle Richtungen um die Kanäle zu gruppieren.

Tafel 6 zeigt den Verlauf eines extrazellulären Kanals in vier aufeinanderfolgenden Bildern einer Schnittserie. Es fällt auf, daß der Kanal im Bereich einer für die Muskellamellen untypischen Doppelfibrille verläuft. Weiterhin ist zu sehen, daß zytoplasmatische Ausläufer der Nachbarzelle von beiden Öffnungen her in den Kanal eindringen, eine Beobachtung, die man bisher

nur bei Fischen gemacht hat (FRANZINI-ARMSTRONG & PORTER, 1964a, b und FRANZINI-ARMSTRONG, 1964, 1973a). Tafel 7b, c zeigt, daß solche Bildungen für die Rumpfmuskulatur von Branchiostoma nicht untypisch sind. Die Existenz von extrazellulären Tubuli und Zytoplasmaausläufern scheint allerdings nicht unbedingt miteinander gekoppelt zu sein; denn viele der beobachteten Kanäle enthielten keine Ausläufer. Werden jedoch Zytoplasmaarme ausgebildet, so sind sie immer frei von Myofibrillen oder Myofilamenten. In der Regel enthalten sie nur Zytoplasma und Glykogenpartikel.

Spezialisierte Zellkontakte zwischen den auf diese Weise eng miteinander verzahnten Zellen konnten nicht gefunden werden.

3.3. Die superfiziellen Lamellen

Den kleinsten Zelltyp in der Rumpfmuskulatur von Branchiostoma stellen die sogenannten "superfiziellen" Lamellen an der lateralen Oberfläche der Myotome (vgl. Tafel 20a, b). Diese Zellen unterscheiden sich in vielerlei Hinsicht von den beschriebenen tiefen Lamellen:

1. Sie reichen nicht weiter als 20 µm in das Gefüge der tiefen Lamellen hinein (vgl. auch FLOOD, 1968 und 1977) und nehmen nur 2 - 4 % vom Gesamtvolumen der Myotome ein.
2. Sie sind elektronendichter (vgl. Kapitel: Myosindichten).
3. Ihre Fibrillen sind im Querschnitt dünner als die der tiefen Lamellen und polygonal.
4. Die Fibrillen sind dicht gepackt und besitzen keine zytoplasmatischen Brücken in der Art wie sie bei den anderen Zellarten vorkommen (Tafel 21d und 25a).
5. Die Mitochondrien sind im Querschnitt rundlich bis oval (Tafel 24, 25b) und besitzen eine im Vergleich zu den Mitochondrien der tiefen Lamellen kontrastreichere Matrix.

Außerdem sind die Mitochondrien der superfiziellen Zellen vom Cristae-Typ, während die der tiefen Lamellen tubuläre Einstülpungen der Innermembran besitzen (vgl. Tafel 10).

6. Das SR ist weniger ausgeprägt und hat einen tubulären Charakter. Im Bereich der I-Bande liegen flachgedrückte Zisternen des SR-Systems (Tafel 9). Aus Flachschnitten, die tangential durch den Zytoplasmasaum der Zellen verliefen, wurde deutlich, daß das sarkoplasmatische Retikulum der superfiziellen Lamellen generell anders aufgebaut ist als das der tiefen Lamellen (vgl. Kapitel: Das SR der tiefen Lamellen). Es bildet ein flaches Maschenwerk von tubulären und zisternenförmigen Komponenten. Im I-Banden-Bereich liegen relativ weitlumige SR-Zisternen mit polygonalem Querschnitt, die im Flachschnitt hell und leer erscheinen (Tafel 8b). Diese Zisternenbänder sind von unterschiedlicher Breite und werden von relativ großen Fenstern durchbrochen. Für die A-Bande sind flache kontrastreiche SR-Bereiche typisch, die wie die Zisternen im Bereich der I-Bande gefenstert sind. Diese Fenster sind kleiner, aber ebenfalls unregelmäßig geformt. Die feindurchbrochenen SR-Areale sind untereinander durch ein grobmaschiges Netzwerk von SR-Tubuli verbunden. An anderen Stellen scheinen die flachen SR-Bereiche der A-Bande direkt aus den Zisternen an der I-Bande hervorzugehen.

Querschnitte durch das System des sarkoplasmatischen Retikulums dieser Zellart (Tafel 9) zeigten, daß die Zisternen granuläres Material enthalten, während die flachen Bereiche leer erscheinen. Es wird vermutet, daß die dunklere Färbung dieser Bereiche im Flachschnitt durch die doppelte Lage von SR-Membranen hervorgerufen wird.

3.4. Die intermediären Lamellen

Wie alle Zelltypen der Rumpfmuskulatur gehen die intermediären Lamellen von der lateralen Oberfläche der Myotome aus, erreichen aber wie die superfiziellen Lamellen die mediale Oberfläche nicht (vgl. FLOOD, 1968). Sie sind in der Regel schmaler als 1 µm; ihre Fibrillen stehen oft mehrere Mikrometer auseinander und sind auffallend klein (vgl. Tafel 15a und 20c). Es wurden Fibrillen gefunden, die weniger als 20 Myosinfilamente pro Sarkomer aufwiesen.

Die unregelmäßig geformten Myofibrillen sind durch schmale, oft sehr lange Zytoplasmabrücken miteinander verbunden. Ihre Filamentdichte ist gegenüber den tiefen Lamellen erhöht (vgl. Kapitel: Myosindichten). Das Sarkoplasma ist beschränkt auf die Zytoplasmabrücken und auf einen schmalen Saum, der die Myofibrillen umgibt. Im Sarkoplasma liegen Mitochondrien, die in ihrer Struktur den Mitochondrien der tiefen Lamellen gleichen, d. h. sie besitzen eine helle Matrix und die Innenmembran ist tubulär eingestülpt. In der Regel sind die Mitochondrien aber kleiner als die der tiefen Lamellen.

Neben den Mitochondrien findet man im Zytoplasma der intermediären Lamellen ein SR, das teils vesikulär und teils tubulär strukturiert ist (vgl. Tafel 11 und 21). Besondere Beziehungen zwischen der Lage der großlumigen SR-Vesikel und der Sarkomerstruktur wie bei den übrigen Zellarten scheint es hier nicht zu geben. Mit Hilfe von Tangentialschnitten (Tafel 11) durch die Peripherie der Zellen wurde ein Bild des sarkoplasmatischen Retikulums dieser Lamellen erstellt, welches von dem der beiden anderen Zelltypen abweicht. Danach liegen im Zytoplasma der intermediären Lamellen Gruppen von großlumigen Zisternen, die über schmale tubuläre Brücken untereinander und mit anderen Gruppen verbunden sind. Das SR bildet so ein kontinuierliches

Netzwerk, das die Fibrillen eng umgibt. Ob die SR-Systeme der einzelnen Fibrillen miteinander verbunden sind, d. h. die räumliche Kontinuität über die beschriebenen Zytoplasmabrücken hinweg aufrechterhalten wird, konnte bisher nicht entschieden werden.

Die SR-Zisternen der intermediären Lamellen enthalten neben granulärem Material oft auch elektronendichte Partikel, wie sie bereits für die tiefen Lamellen beschrieben wurden (Tafel 11). Die tubulären Anteile waren dagegen offenbar leer.

3.5. Markerexperimente

3.5.1. Der extrazelluläre Raum

Flood (1968) kam aufgrund seiner Experimente zu der Vorstellung, daß der extrazelluläre Raum zwischen den Muskellamellen vom Außenmilieu her nicht frei zugänglich sei. Lanthan als extrazellulärer Marker sollte demnach nicht in der Lage sein, in diese Spalten einzudringen.

Bei allen morphologischen und physiologischen Experimenten mit der Rumpfmuskulatur ist es wichtig zu wissen, ob die Ionen der physiologischen Lösungen und größeren Moleküle wie Glutaraldehyd freien Zugang zu den Muskellamellen haben. Unter Verwendung der extrazellulären Markiersubstanzen Lanthan und Ferritin wurde diese Fragestellung erneut überprüft.

Morphometrische Analysen von Gewebsquerschnitten aus unterschiedlichen Bereichen der Myotome zeigten, daß der Extrazellulärraum mit durchschnittlich 4 % am Gesamtvolumen der Muskulatur beteiligt ist (Tafel 18), ein im Vergleich zur Amphibienmuskulatur mit 9 - 14 % Extrazellulärraum (DESMEDT, 1953; FINK, GROCKI & LÜTTGAU, 1980b; HARRIS, 1963 und PUSCH, 1978) niedriger Wert.

Der Anteil des extrazellulären Raums an der Rumpfmuskulatur war im gesamten Myotom etwa gleich. Die Schwankungen der Meßwerte betrugen im Durchschnitt 0.1 %, bezogen auf das Gesamtvolumen des Muskels, bzw. 11 % des gemessenen extrazellulären Raums.

Vor Beginn der Behandlung mit den extrazellulären Markern wurden das Epithel und Teile der die Myotome umhüllenden Cutis des Lanzettfischchens entfernt (s. MELZER, 1977). Wie in Tafel 12a, b und d zu sehen ist, war die so freigelegte Rumpfmuskulatur für sämtliche Marker zugänglich. Selbst große Moleküle wie Ferritin (Ø 11 nm) konnten in die extrazellulären Spalten diffundieren. Die Moleküle des Ferritins fanden sich nach der Inkubation vorwiegend in allen extrazellulären Spalten in der Nähe der Myosepten und in den peripheren extrazellulären Räumen. Aufgrund ihres großen Durchmessers und der geringen Diffusionsgeschwindigkeit wurden in den zentralen Teilen der Myotome nur selten Ferritinmoleküle gefunden. Als unzugänglich für den Marker erwiesen sich auch Engpässe zwischen den Muskellamellen: Während die weitlumigen Bereiche eine große Zahl Markerpartikel enthielten, waren die Schmalstellen des extrazellulären Raums meist leer (Tafel 12a).

Im Gegensatz zu Ferritin war Lanthan nahezu überall im Muskel zu finden und markierte hier vorwiegend die für Ferritin nicht zugänglichen Schmalstellen zwischen den Membranen. Die großlumigen Bereiche waren weitgehend frei von Lanthan (Tafel 12b). Lanthanniederschläge an der Außenseite der Zellmembran zeugten allerdings davon, daß sich das Lanthan auch in diesen Bereichen befunden hatte. Offenbar wird der Marker bei der Aufbereitung des Gewebes für das Elektronenmikroskop aus den großlumigen Spalträumen ausgewaschen.

3.5.2. Das sarkoplasmatische Retikulum

Das sarkoplasmatische Retikulum der Muskellamellen war immer frei von Markersubstanz (Tafel 12a, b, d). Weder bei den tiefen, noch bei den intermediären oder superfiziellen Lamellen wurden Übergänge von Lanthan oder Ferritin in das SR beobachtet.

3.5.3. Der intrazelluläre Raum

Lanthan war jedoch in der Lage, das Sarkolemma der Muskellamellen von Branchiostoma zu passieren und sich innerhalb der Zellen an bestimmten Stellen in charakteristischer Form abzulagern. Die typischen sternchenförmigen Lanthanniederschläge (siehe Tafel 12c und e) wurden 1. direkt unterhalb der Zellmembran, 2. in der I-Bande und 3. in einer charakteristischen Doppelreihe an der M-Linie gefunden. Der übrige intrazelluläre Raum, d. h. der Bereich der A-Bande der Sarkomere und das Zytoplasma, waren nur geringfügig kontaminiert. Eine Markierung der Kontaktregion zwischen SR und Zellmembran, wie sie Hagiwara und Mitarbeiter (1971) beschrieben, konnte unter den genannten Bedingungen nicht gefunden werden.

Unter Lanthaneinfluß war das Strukturgefüge des intrazellulären Raums stark verändert (Tafel 13a). Im Vergleich zum Standardpräparat waren die Mitochondrien stark geschwollen und zeigten Zerstörungen unterschiedlichen Grades. Typisch für Lanthan-behandelte Muskellamellen war auch eine enorme Vergrößerung der SR-Vesikel (Tafel 13a). Während die Zahl der SR-Vesikel verringert war, zeigten die angeschwollenen Vesikel in ihrem Inneren mehrere der sonst einzeln auftretenden typischen Grana (vgl. Kapitel: Inhalt der SR-Vesikel).

Arbeiten von Wallimann und Mitarbeitern (1977) deuteten darauf hin, daß ca. 5 % der muskulären Kreatinkinase an der M-Linie

der Sarkomere gebunden ist. Die enzymatische Funktion dieser Substanz besteht darin, Kreatinphosphat unter Bildung von Kreatin und anorganischem Phosphat zu spalten. Es ist möglich, daß das in die Zelle eingedrungene ionale Lanthan sich mit dem bei der enzymatischen Tätigkeit der Kreatinkinase anfallenden anorganischen Phosphat zu dem schwer löslichen Lanthanphosphat verbindet. Zur Prüfung dieser Hypothese wurde der Rumpfmuskel vor der Inkubation in Lanthan mit einer bei pH 7.4 gepufferten 20-40 mmol Lösung von 2.4- Dinitrofluorbenzol (2.4-DNFB) behandelt. Diese Substanz ist bekannt dafür, daß sie speziell die Enzymfunktion der Kreatinkinase hemmt (vgl. PEACHEY, 1968).

Das vergiftete Muskelgewebe von Branchiostoma hatte noch Markerniederschläge im Inneren der Muskellamellen; aber sie waren selten, zeigten eine veränderte Form und waren unregelmäßig in den Myofibrillen verteilt (Tafel 13c). Sowohl im Bereich der I-Bande als auch an der A-Bande wurden globuläre Niederschläge gefunden, die zum Teil das Strukturgefüge der Myofibrillen durch Verdrängen der Filamente verändert hatten. Strukturveränderungen zeigte auch die I-Bande, deren Z-Scheibe häufig aufgelöst war (Tafel 13b).

3.6. Strukturelle Gradienten in der Rumpfmuskulatur

Betrachtet man zunächst einen lichtmikroskopischen Querschnitt durch ein Myotom (Tafel 14a und 20a), so beobachtet man im Verlauf der tiefen Lamellen von der lateralen zur medialen Myotomoberfläche Veränderungen im Umriß der Zellplatten: Ist der Verlauf der tiefen Lamellen in der Peripherie und im Mittelteil noch parallel und gerade, so verlaufen die Zellen in ihren basalen Teilen gewunden und verästelt (Tafel 14a). Diese Formveränderung der Lamellen geht einher mit einer Veränderung der Myofibrillen. Findet man in den peripheren Bereichen fast ausschließlich länglich ovale Fibrillenquerschnitte, die regelmä-

ßig hintereinander aufgereiht sind (vgl. Tafel 15a), so ist dies an der Basis die Ausnahme. Hier ist der Querschnitt der Fibrillen meist vielgestaltig, oft scheinen sie auch gespalten und verzweigt zu sein (Tafel 15b). Verzweigungen der Zellen selbst wurden nicht beobachtet. Im Gegensatz zu der Peripherie der Zellen findet man an der Basis häufig Bereiche, die einen hohen Anteil an Zytoplasma enthalten. Tafel 14b zeigt das Beispiel eines solchen Zellbezirks, in dem fast die Hälfte des Zellvolumens aus Zytoplasma zu bestehen scheint. Daneben findet man auch Lamellen, die nur den üblichen dünnen Zytoplasmasaum besitzen (Tafel 15b).

Ebenso wie die Form der Zellen verändert sich von der Peripherie zur Basis hin der licht- und elektronenmikroskopische Kontrast der tiefen Lamellen. Diese Zellen werden durch basisches Fuchsin in der Peripherie hell und an der Basis dunkel angefärbt (vgl. Tafel 1d). Vergleiche von elektronenmikroskopischen Bildern aus der Peripherie, dem Mittelteil und der Basis der Lamellen zeigten, daß diese Kontraststeigerung zwei Gründe hat: 1. In der Basis findet man zwischen den Myofilamenten granuläres Material (Tafel 15). 2. Quantitative Auswertungen ergaben, daß in der Basis die Filamente dichter gepackt sind. Während sich der Mittelteil mit durchschnittlich 460 Myosinfilamenten/μm^2 und die Peripherie (390 Myosinfilamente/μm^2) nur geringfügig unterschieden, war eine deutliche Zunahme der Myosinfilamentdichte zur Basis hin erkennbar. Es wurden hier in 60 Zählungen durchschnittlich 670 Myosinfilamente/μm^2 gezählt. Diese Ergebnisse sind in Tafel 16 graphisch dargestellt.

Längsschnitte aus den drei Bereichen der Muskellamellen zeigten, daß die Länge der I-Bande keinen wesentlichen Schwankungen unterworfen ist, d. h. daß die unterschiedliche Dichte der Myosinfilamente nicht durch unterschiedliche Kontraktionsgrade erklärt werden kann (vgl. Diskussion). Zusätzlich zeigten die

Längsschnitte (Tafel 17), daß die Länge der A-Bande an der Basis der Zellen größer ist als in der Peripherie. Alle untersuchten Lamellen zeigten diese charakteristische Längenzunahme der Myosinfilamente. Während in der Peripherie A-Banden mit einer Länge von 1.5 - 1.6 µm gefunden wurden, waren die Myosinfilamente der basalen Fibrillen im Durchschnitt 17 % länger ($\pm$ 4 %).

Da die Filamente der tiefen Lamellen die für Vertebraten typische doppelt-hexagonale Anordnung hatten (s. Inset in Tafel 15b), war das Aktin/Myosin Verhältnis mit 2 : 1 in allen Bereichen gleich. Nur in der Peripherie war dieses Muster aus noch ungeklärter Ursache häufig gestört (Inset in Tafel 15a). Hier lagen Reihen von Aktin- und Myosinfilamenten nebeneinander. Auszählungen ergaben jedoch, daß das Aktin/Myosin Verhältnis nicht beeinflußt war.

Vergleicht man die Peripherie der tiefen Lamellen mit ihrer Basis, so fallen neben den genannten Unterschieden weitere Gradienten in diesem Zelltyp auf: 1. Die Größe der Mitochondrien verringert sich, und ihre Anzahl sinkt, verglichen mit der Peripherie, auf durchschnittlich weniger als 30 % (Tafel 15). 2. Das sarkoplasmatische Retikulum verändert seine Form: Während in der Peripherie das SR aus rundlichen Vesikeln besteht, flachen sich diese globulären Strukturen an der Basis der tiefen Lamellen zu flachen Zisternen ab (vgl. Tafel 15b). Morphometrische Analysen mehrerer tausend SR-Vesikel zeigten, daß das Volumen dieser Strukturen zur Basis auf weniger als 50 % des Wertes für die Peripherie abnimmt. Während im Durchschnitt 11 % des intrazellulären Raums in der Peripherie von SR-Vesikeln eingenommen wird, sind es im Mittelteil der Myotome 6 % und an der Basis 5 % (Tafel 18).

In Tafel 19 sind die in den tiefen Muskellamellen gefundenen Gradienten zusammengefaßt.

3.7. Myosindichten

Sowohl im Licht- als auch im Elektronenmikroskop fällt der Kontrastunterschied zwischen den tiefen, intermediären und superfiziellen Lamellen auf (Tafel 20, 21). Für die tiefen Lamellen war gezeigt worden, daß eine Steigerung des Kontrasts der Myofibrillen auf eine höhere Filamentdichte und interfilamentöses Material zurückzuführen ist (vgl. Kapitel: Strukturelle Gradienten in der Rumpfmuskulatur).

Analysen von elektronenmikroskopischen Querschnitten der verschiedenen Zelltypen zeigten denn auch, daß in den intermediären und superfiziellen Lamellen der Gehalt an interfilamentösem Material erhöht war (Tafel 15a, 23). Zusätzlich enthielten die superfiziellen Zellen sehr viel mehr Mitochondrien und Glykogenpartikel.

Die Hauptursache des Kontrastunterschiedes der Lamellen beruht jedoch auf einer dichteren Packung der Myosin- und Aktinfilamente. Den geringsten Myosingehalt hatten die Fibrillen der tiefen Lamellen. Dieser Typ von Muskelzellen enthielt im Durchschnitt 390 Myosinfilamente/μm^2. Mehr als doppelt so hoch (817 Myosinfilamente/μm^2) war der Wert für die superfiziellen Lamellen. Die intermediären Lamellen nahmen mit durchschnittlich 586 Myosinfilamenten eine Zwischenstellung zwischen den tiefen und superfiziellen Lamellen ein. Zählungen der Aktinfilamente der tiefen und intermediären Zellen deuteten darauf hin, daß in beiden Zelltypen ein Aktin/Myosin Verhältnis von 2 : 1 vorliegt. Die Auszählung des Aktins der superfiziellen Lamellen erübrigte sich, da dieser Zelltyp das für die Vertebratenmuskulatur charakteristische doppelt-hexagonale Muster der Myofilamente ausgebildet hatte. Somit war auch in dieser Zellart das 2 : 1 - Verhältnis von Aktin/Myosin gewahrt.

Die Myosinauswertungen sind in Tafel 22 graphisch zusammengefaßt.

3.8. Die laterale Oberfläche der Myotome

Die laterale Oberfläche der Myotome, also die Zone, die an die umhüllende Cutis grenzt, zeigt ein von der Gesamtmuskulatur in vielen Aspekten abweichendes Bild der Muskellamellen (Tafel 24) und verdient deshalb eine eingehende Beschreibung.

An der peripheren Oberfläche der Myotome unmittelbar unter dem umhüllenden Kollagen liegt über den großen Muskelplatten eine Lage kleiner stark miteinander verzahnter Zellen, deren Funktion in der Bildung des peripheren Kollagens der Cutis vermutet wird (Tafel 24). Zwischen dieser Zellschicht und den Kappen der Muskelzellen befindet sich ein 1/2 bis 1 µm breiter zellfreier Raum. Er enthält granuläres Material, dessen charakteristische Lymphstruktur schon von Flood (1968) beschrieben wurde.

An diesen zellfreien Raum grenzen die Zellkappen der Muskellamellen, die in ihrem apikalen Bereich keine Myofibrillen enthalten. Dieses Areal ist unterschiedlich strukturiert. Während einige Zellen einen langen, schmalen, Ausläufer-ähnlichen Fortsatz bilden, besitzen andere Zellen nur einen kurzen, breiten, Fibrillen-freien Bereich. Eine Korrelation zwischen der Struktur der apikalen Region und dem Lamellentyp war nicht möglich. Allen Zellkappen ist jedoch neben dem Fehlen von Myofibrillen gemeinsam, daß sie eine außergewöhnliche Menge von Glykogenpartikeln, Mitochondrien sowie extrafibrilläres filamentöses Material besitzen. Man findet in diesem Bereich auch Mikrotubuli, die in der Regel in Muskellängsrichtung verlaufen. Einige Zellen, vorwiegend die tiefen Lamellen, zeigten eine ungewöhnlich hohe Anzahl von Vesikeln, die in ihrer Form und Größe den Vesikeln des SRs entsprachen. Die wenigsten dieser Vesikel hatten jedoch Kontakt zum Sarkolemma.

Der Inset in Tafel 24 zeigt endozytotische Einstülpungen der Zellmembran. Solche Einstülpungen findet man häufig im apikalen Bereich der Muskellamellen, doch sind sie nicht auf die Kappen der Lamellen beschränkt. Es ist daher anzunehmen, daß zumindest einige der im Zytoplasma liegenden Vesikel nicht zum sarkoplasmatischen Retikulum gehören, dessen Ursprung ja die äußere Kernhülle ist (vgl. PEACHEY, 1965 und FRANZINI-ARMSTRONG & PORTER, 1964a). Wie die Vesikel des SRs von solchen Endozytosevesikeln unterschieden werden können, ist bisher nicht klar.

3.9. Zellkontakte

Die Muskellamellen von Branchiostoma sind durch Desmosomen mechanisch miteinander verbunden (Tafel 24). Diese Zellkontakte findet man vorwiegend an der äußersten Peripherie der Muskelzellen und zwischen den Ausläufern, die zum Neuralrohr führen. Im mittleren Bereich wurden keine Desmosomen beobachtet. Die Desmosomen der Peripherie sind zwischen den Nachbarzellen regelmäßig ausgebildet (vgl. Tafel 24); es wird deshalb angenommen, daß es sich um sogenannte "belt"-Desmosomen handelt. Bandförmige mechanische Zellkontakte dieser Art kommen vorwiegend im apikalen Teil von mechanisch stark beanspruchten Geweben vor, so auch in Epithelien (vgl. STAEHLIN, 1974 und STAEHLIN & HULL, 1978). Sie umschließen die Zellen ringförmig. In Branchiostoma wurde meist ein Desmosom pro Lamelle gefunden.

Zwischen den medialen Ausläufern der Muskelzellen sind Desmosomen weniger regelmäßig zu finden (Tafel 7a). Hier müßten Versuche mit der Gefrierätztechnik herangezogen werden, um ihre Form genauer zu untersuchen.

Eine andere Art der Zellkontakte sind die sogenannten "tight junctions" (STAEHLIN, 1974 und STAEHLIN & HULL, 1978), die die

Aufgabe erfüllen, in einem Zellverband chemisch und physikalisch unterschiedliche Medien voneinander zu trennen. Ähnliche Strukturen vermutete Flood (1968) im apikalen Bereich der Muskellamellen von Branchiostoma. Diese als "adhesing points" bezeichneten Strukturen sollten u. a. die Diffusion von Lanthan in die extrazellulären Spalten zwischen den Muskellamellen verhindern. In der vorliegenden Arbeit konnten jedoch keine Diffusionsbarrieren zwischen den Lamellen beobachtet werden (vgl. Kapitel: Markerexperimente). Dennoch berühren sich die Membranen benachbarter Zellen zwischen der Peripherie und der Basis der Myotome mehrmals und bilden punktförmige Membran-"Verschmelzungen", wie sie für tight junctions charakteristisch sind (Tafel 25). Es ist aber auch möglich, daß sich hier die Membranen nur optisch überlagern. Wiederum müßte die Gefrierätzmethode zur Klärung dieses Problems herangezogen werden.

Eine dritte Klasse von Zellkontakten, die "gap junctions", scheint in der Rumpfmuskulatur von Branchiostoma gar nicht ausgebildet zu sein.

3.10. Filamente und Mikrotubuli

In den Muskellamellen von Branchiostoma findet man Systeme filamentösen Materials 1. in der schon genannten apikalen Zone (vgl. Kapitel: Die laterale Oberfläche der Myotome), 2. in der Umgebung der Kerne und 3. in dem unmittelbar an die Fibrillen grenzenden Zytoplasmasaum. Die Filamente haben eine Aktin-ähnliche Struktur, sind aber in vielen Fällen wesentlich länger als die Filamente der I-Bande. Während sie in der apikalen Kappe der Muskellamellen zu Bündeln zusammengefaßt sind (vgl. Tafel 24) und in Muskellängsrichtung orientiert sind, bilden die Filamente im Zytoplasmasaum einen lockeren Verband. Die Filamente dieses Bereiches verlaufen meist quer oder schräg zur Muskellängsrichtung (vgl. Tafel 4, 8 und 26). Eine be-

stimmte Ausrichtung der Filamente im Kernbereich konnte nicht gefunden werden. Diese Art der Filamente scheint eng mit den Myosinfilamenten der Myofibrillen assoziiert zu sein (Tafel 26c).

Neben den Filamenten findet man oft Anschnitte von Mikrotubuli. Im Querschnitt sehen diese Tubuli hohl aus und sind etwas dicker als die Myosinfilamente (Tafel 24). Im Längsschnitt zeigen sie eine regelmäßige Strukturierung, die häufig den Eindruck einer Helix entstehen läßt (Tafel 26a und b). Wie die extrafibrillären Filamente sind die Mikrotubuli in der apikalen Zone und im Raum zwischen den Myofibrillen meist in Muskellängsrichtung orientiert. Im Zytoplasma zwischen Sarkolemma und Myofibrille liegen sie in der Regel schräg oder quer im Muskel. Häufig finden sich in der Nähe Mitochondrien (Tafel 10).

4. DISKUSSION

4.1. Die elektromechanische Kopplung

Hagiwara und Mitarbeiter (1971) beschrieben mit der Rumpfmuskulatur des Lanzettfischchens zum ersten Mal ein Muskelpräparat, das sich nach Meinung der Autoren in wesentlichen Aspekten von dem weithin akzeptierten Funktionsmodell der elektromechanischen Kopplung unterscheidet. Auf der Grundlage der außergewöhnlichen Struktur der Muskellamellen interpretierten die Autoren ihre elektrophysiologischen Experimente dahingehend, daß bei einer Aktivierung der Lamellen allein extrazelluläres Ca^{2+}, das über die Zellmembran in den Intrazellulärraum einströmt, die Kontraktion hervorruft. In der Muskellamelle von Branchiostoma schien also ein System vorzuliegen, in dem sowohl die Erregungsleitung ins Innere der Zellen mit Hilfe eines Kanalsystems als auch die Ca^{2+}-Freisetzung aus dem sarkoplasmatischen Retikulum nach der Erregung der Zellmembran fehlt.

Ein wesentlicher Teil der vorliegenden Arbeit beschäftigt sich mit der Frage, ob dieser funktionelle Unterschied durch morphologische Befunde gestützt werden kann.

4.1.1. Funktion der SR-Vesikel

Das sarkoplasmatische Retikulum ist ein intrazelluläres Membransystem, das einen wesentlichen Teil der elektromechanischen Kopplung der Muskelfasern übernimmt. Nach heutiger Auffassung besteht seine Hauptfunktion darin, das in ihm gespeicherte Kalzium bei der Muskelaktivierung ins Sarkoplasma freizusetzen und zur Erschlaffung des Muskels wieder zu resorbieren. Dadurch steigt bei Aktivität die freie Ca^{2+}-Konzentration im Inneren der Faser um etwa 2 Größenordnungen (von ca. 10^{-8} auf 10^{-6} M), und die Kontraktion wird eingeleitet. Die Kalziumausschüttung geschieht nicht unkontrolliert, sondern sie wird durch elektrische Vorgänge an der Membran der T-Tubuli gesteuert. Dies be-

deutet, daß das SR in irgendeiner Weise mit dem transversalen tubulären System gekoppelt sein muß.

4.1.2. Morphologie des SRs

Im Laufe des vergangenen Jahrzehnts sind zahlreiche Arbeiten erschienen, die sich auf morphologischer Basis mit diesem Aspekt der Skelettmuskulatur beschäftigen. Der experimentelle Ansatz war jeweils unterschiedlich, z. B. über Standard-Schnittpräparate (FRANZINI-ARMSTRONG, 1969, 1970a, b, 1971, 1972a, b, 1973b), Gefrierätzpräparate (FRANZINI-ARMSTRONG, 1974; KELLY, 1978; KELLY & KUDA, 1979; NUNZI et al., 1979; BERTAUD et al., 1970; RAYNS et al., 1975 und SMITH et al., 1975), Gefriersubstitution (FRANZINI-ARMSTRONG et al., 1978) und Rasterelektronenmikroskopie (SAWADA et al., 1978). Aus allen diesen Untersuchungen wurde deutlich, daß die Kontaktregion zwischen SR und T-System der Ort sein muß, an dem die Signalübermittlung auf das sarkoplasmatische Retikulum stattfindet. Diese Region zeigt strukturelle Spezialisierungen, die für die Skelettmuskeln aller Vertebraten charakteristisch sind:

a) Die Membranen des SRs und des T-Systems berühren sich nicht, sondern sind durch einen Kontaktspalt, den sogenannten "junctional gap", getrennt. Dieser Spalt ist in der Regel 10 - 15 nm breit (FRANZINI-ARMSTRONG, 1970a, 1972a, b, 1973; WALKER & SCHRODT, 1965; KELLY, 1969, 1967a; EISENBERG & GILAI, 1979). In diesem Bereich zeigt die Membran des SRs regelmäßige Ausbuchtungen, die die Membran gewellt erscheinen lassen.

b) An den äußersten Spitzen der Ausbuchtungen befinden sich elektronendichte Partikel, die sogenannten Füßchen. Diese Füßchen überbrücken den Kontaktspalt und verbinden so die Membranen des T-Systems und des sarkoplasmatischen Retikulums miteinander.

4.1.3. Die Rolle der Füßchen in der elektromechanischen Kopplung

In den Füßchen sieht man heute die eigentlichen Träger der Signalübermittlung auf das SR (EISENBERG & GILAI, 1979; NUNZI, FRANZINI-ARMSTRONG & PEACHEY, 1979; RAYNS, DEVINE & SUTHERLAND, 1975). Diese Strukturen sind charakterisiert durch:

a) eine tetragonale Anordnung der Füßchen zueinander (KELLY & CAHILL, 1969; FRANZINI-ARMSTRONG, 1970a, b, 1973b, 1972a und 1975),

b) einen Durchmesser von etwa 20 nm, der bei allen untersuchten Präparaten nahezu gleich war (KELLY & CAHILL, 1969; FRANZINI-ARMSTRONG, 1970a, b und 1973b),

c) einen Abstand von ca. 30 nm zwischen den Zentren benachbarter Füßchen (KELLY & CAHILL, 1969; FRANZINI-ARMSTRONG, 1970a, b und 1973b),

d) eine Erweiterung ihres Durchmessers in der Mitte der Füßchen, so daß sie im Längsschnitt annähernd rhombisch erscheinen (FRANZINI-ARMSTRONG, 1974 und 1975) und

e) eine helle Längsachse, die im Zentrum der Füßchen verläuft (EISENBERG, EISENBERG & GILAI, 1979; EISENBERG & GILAI, 1979; NUNZI, FRANZINI-ARMSTRONG & PEACHEY, 1979 und SOMLYO, 1978, 1979).

Obwohl die Ultrastruktur der Kontaktregion zwischen der Membran des T-Systems und derjenigen des SRs eingehend untersucht worden ist, bleibt die Rolle der Füßchen in der elektromechanischen Kopplung bis heute Diskussionsgegenstand. Ein weitgehend akzeptiertes Modell der elektromechanischen Kopplung geht von einer Ladungsverschiebung innerhalb der T-Systemmembran aus. Diese Ladungsverschiebung bewirkt, daß in der Membran des SR Poren geöffnet werden, durch die Ca-Ionen in den intrazellulären Raum diffundieren können. Die Füßchen sollen dabei die

Rolle der Signalübermittler spielen (vgl. auch Kapitel: Einleitung).

4.1.4. Morphologie der Kontaktzone zwischen SR und Zelloberfläche bei Branchiostoma

Wegen der möglicherweise entscheidenden Rolle der Füßchen bei der elektromechanischen Kopplung betrafen die eingehendsten Untersuchungen der vorliegenden Arbeit die Kontaktregion der SR-Vesikel mit der Zellmembran. Es konnte nachgewiesen werden, daß die Kontaktregion in den wesentlichsten Aspekten mit der Struktur der Vertebratentriade übereinstimmt: Die SR-Vesikel und die Zellmembran werden durch einen 11nm breiten Spalt getrennt. Diesen Spaltraum überbrücken regelmäßige elektronendichte Strukturen, die in Anordnung und Größe den Füßchen der Vertebratentriade gleichen. Der Aufbau beider Strukturen ist nahezu identisch; so besitzen beide einen Durchmesser von ca. 20 nm, eine charakteristische Durchmessererweiterung in ihrer Mitte und eine helle zentrale Achse. Nur in einem einzigen Punkt wich die Struktur der Kontaktregion von dem oben genannten Schema der Vertebratentriade ab: Die charakteristischen Membranausbuchtungen des sarkoplasmatischen Retikulums konnten nicht gefunden werden. Untersuchungen an Invertebraten (HOYLE, 1965; ROSENBLUTH, 1969 und FRANZINI-ARMSTRONG, 1974) hatten aber gezeigt, daß nicht alle Muskeln Ausbuchtungen der beschriebenen Art besitzen. Bertaud und Mitarbeiter (1970) vermuteten sogar, daß es sich bei dem wellenförmigen Verlauf der SR-Membran nicht um eine Membranspezialisierung, sondern um eine künstliche, durch Gewebsschrumpfung hervorgerufene Verformung des SR handele.

Insgesamt zeigt also die Kontaktregion in Branchiostoma keine wesentlichen strukturellen Abweichungen von der Vertebratentriade, so daß aus morphologischer Sicht keine Argumente für

eine abweichende elektromechanische Kopplung bei den Muskellamellen vorliegen. Der nahezu identische Bau der Füßchen bei Branchiostoma und Vertebraten legt im Gegenteil die Vermutung nahe, daß es keine funktionellen Unterschiede zwischen beiden SR-Systemen gibt.

4.1.5. Elektrophysiologie der elektromechanischen Kopplung bei Branchiostoma

Elektrophysiologische Versuche, die parallel zu der vorliegenden Arbeit durchgeführt wurden (MELZER, 1980), zeigten, daß die SR-Vesikel in Branchiostoma tatsächlich eine komplexere Funktion besitzen müssen, als Hagiwara und Mitarbeiter (1971) annahmen. Die in diesem Zusammenhang wesentlichsten Befunde waren:

a) Unter praktisch Ca^{2+}-freien Bedingungen konnten bei Verbesserung der Kopplung durch Thiozyanationen (SCN^-) Muskelkontraktionen mit normaler Kraftentwicklung ausgelöst werden.

b) Eine vorhergehende Coffeinbehandlung der Muskellamellen reduzierte diese Kraftentwicklung erheblich.

Melzer (1980) kommt zu folgender Schlußfolgerung: Die Muskellamellen besitzen intrazelluläre Ca^{2+}-Speicher, die auf ein Aktionspotential hin Ca^{2+} in den intrazellulären Raum ausschütten und dadurch eine normale Kontraktion ermöglichen. Wird mit Hilfe von Coffein ein Teil des gespeicherten Kalziums aus dem SR freigesetzt, so kann bei einer Aktivierung der Lamellen nur wenig Ca^{2+} ausgeschüttet werden, und die Kraftentwicklung wird geringer.

Die morphologischen Befunde zeigen zusammen mit den elektrophysiologischen Experimenten eindeutig, daß die SR-Vesikel von Branchiostoma die gleiche Bedeutung besitzen wie das SR

der Vertebraten. Das bedeutet, daß die Vesikel sowohl an der Ca^{2+}-Ausschüttung als auch an der Resorption der Ionen beteiligt sind.

4.1.6. Extrazelluläre Kanäle

Ein unerwartetes Ergebnis dieser Arbeit ist der Nachweis von extrazellulären Kanälen innerhalb der tiefen Muskellamellen von Branchiostoma. In der Wirbeltiermuskulatur dienen die extrazellulären Kanäle des T-Systems dazu, die Depolarisation der Zellmembran in das Innere der Muskelfasern zu leiten und praktisch gleichzeitig die Erregung sämtlichen anliegenden terminalen Zisternen des SRs mitzuteilen. Dadurch wird die Aktivität aller Myofibrillen einer Faser synchronisiert (Übersichtsartikel siehe: COSTANTIN, 1975a, b; EBASHI , 1976, 1980; ENDO, 1977; CAPUTO, 1978; FABIATO & FABIATO, 1977; LÜTTGAU & GLITSCH, 1976; LÜTTGAU & MOISESCU, 1978 und PODOLSKY, 1975).

Eine andere Lösung dieses Problems schien in den Muskellamellen von Branchiostoma verwirklicht zu sein. Hier findet man keine Bündelung der Myofibrillen wie in der Skelettmuskulatur, sondern die Myofibrillen liegen meist in einer einzelnen Reihe nebeneinander. Daher ist trotz der großen Breite der Zellen, die mehrere hundert Mikrometer beträgt, jede Zelle der Bewegungsmuskulatur nicht dicker als 1 - 2 µm. Dies bedeutet, daß jede Myofibrille unmittelbar an die Zelloberfläche grenzt. Es ist deshalb nicht verwunderlich, daß keine Zweifel laut wurden, als diesen Zellen die Existenz eines T-Systems abgesprochen wurde (FLOOD, 1977).

Ausführliche Untersuchungen der tiefen Lamellen zeigten jedoch, daß vorwiegend an der Basis der Zellen sich kurze Tubuli in die Muskelzellen erstrecken. Diese relativ kurzen Kanäle sind zwar in ihrem Bau sehr einfach, doch sind bei ihnen alle,

für das komplexe T-System der Vertebraten charakteristischen Merkmale wiederzufinden:

a) Die Kanäle haben eine direkte Verbindung mit dem extrazellulären Raum.

b) Sie verlaufen in der Regel quer zur Muskellängsrichtung.

c) Ihr Auftreten ist eng an die Sarkomerstruktur gebunden,d.h. sie verlaufen meist auf der Höhe der I-Bande.

d) Sie bilden mit den Vesikeln des SRs charakteristische Kontaktstellen aus, die den Vertebratentriaden ähneln.

Diese strukturellen Gemeinsamkeiten legen es nahe, das Funktionsprinzip des T-Systems auf die extrazellulären Kanäle zu übertragen. Die Bedeutung dieser Kanäle wäre demnach die Leitung der Depolarisation von der Zelloberfläche in das Innere der Lamellen. Eine Unterstützung erhält diese Vermutung durch die Beobachtung, daß Zellen offenbar dort vermehrt Kanäle besitzen, wo die Lamellen außergewöhnlich dick sind. Von einer gewissen Zellgröße an erscheint es offenbar notwendig, die Depolarisation der Zellmembran mit Hilfe extrazellulärer Tubuli ins Innere der Lamellen zu leiten, um eine gleichmäßige Aktivierung zu gewährleisten.

Das Lanzettfischchen besitzt also trotz der außergewöhnlichen Dünne seiner Muskellamellen ein einfaches T-System, das in allen wesentlichen Punkten mit der Struktur des T-Systems der Vertebraten übereinstimmt. Daher kann als sicher angesehen werden, daß die Kanäle auch hier eine wichtige Rolle in der elektromechanischen Kopplung der Lamellen spielen.

4.1.7. Zytoplasmatische Ausläufer

Eine außergewöhnliche strukturelle Eigenschaft der Muskellamellen des Lanzettfischchens ist die Ausbildung von dünnen zytoplasmatischen Zellausläufern. Diese Strukturen ragen in das T-System der Nachbarzellen hinein und bewirken so eine sehr enge Verbindung der Zellen. Ähnliche Strukturen konnten bei den Skelettmuskeln der Amphibien und Säuger bislang nicht nachgewiesen werden, jedoch scheinen solche Zytoplasmaausläufer für einige höhere Fische typisch zu sein. Bei der Muskulatur der Guppies (Lebistes sp.) und der Black mollies (Mollienesia sp.) ziehen lange Ausläufer in das transversale tubuläre System der Nachbarzellen hinein (FRANZINI-ARMSTRONG & PORTER, 1964a, b und FRANZINI-ARMSTRONG, 1964, 1973a). Sie sind in ihrer Form und ihrem zytoplasmatischen Inhalt den Ausläufern bei Branchiostoma sehr ähnlich.

Diese Bildungen verzahnen die entsprechenden Zellen zwar sehr eng miteinander, jedoch fehlen sowohl bei den Fischen als auch bei Branchiostoma spezialisierte Zellkontakte, die über die Funktion dieser Strukturen Auskunft geben könnten (siehe: STAEHLIN, 1974 und STAEHLIN & HULL, 1978). Das Fehlen von spezialisierten Zellkontakten deutet jedoch darauf hin, daß diese Zytoplasmaausläufer nicht den mechanischen Zusammenhalt zwischen den Zellen verbessern, oder die Zytoplasmen miteinander verbinden sollen. Möglicherweise ist ihre Aufgabe mehr im Rahmen der elektromechanischen Kopplung zu sehen.

Franzini-Armstrong (1964) vermutete, daß die Funktion der Zytoplasmastränge in der Fischmuskulatur in einer Verbesserung des Austausches des Kanalinhaltes mit dem des extrazellulären Raumes liegen könnte. Es ist allerdings nicht einsichtig, warum für die wenigen Mikrometer langen Kanäle bei Branchiostoma ein derartiger Hilfsmechanismus notwendig sein sollte.

In Anlehnung an die Arbeit von Franzini-Armstrong & Porter (1964b) kann für Branchiostoma lediglich gesagt werden, daß die Existenz solcher Zytoplasmaausläufer ein Hinweis darauf ist, daß die beschriebenen T-Kanäle keine Artefakte darstellen.

4.2. Markerexperimente

Die Markerexperimente offenbarten vor allem zwei wichtige Eigenschaften der Rumpfmuskulatur:

1. Der Inhalt der schmalen extrazellulären Spalträume zwischen den Muskellamellen ist frei austauschbar.
2. Die SR-Vesikel haben keine offene Verbindung zum Extrazellulärraum.

Flood (1968) hatte vergeblich versucht, die extrazellulären Spalten in der Rumpfmuskulatur mit Lanthan zu markieren. Die Ursache vermutete er in den sogenannten "adhesing points" an der lateralen Oberfläche der Myotome, die er für Diffusionsbarrieren hielt.

Die vorliegende Arbeit zeigt jedoch eindeutig, daß es innerhalb der Rumpfmuskulatur selbst keine Diffusionsbarrieren gibt. Der Nachweis, daß Moleküle mit einem Durchmesser von mehr als 10 nm in den Raum zwischen den Muskellamellen hineindiffundieren können, war von grundlegender Bedeutung für die Beurteilung aller an diesem Präparat durchgeführten morphologischen und physiologischen Experimente. Die Markerversuche bewiesen zusätzlich, daß der Inhalt der Vesikel des sarkoplasmatischen Retikulums nicht mit dem des extrazellulären Raums austauschbar ist. Dies bedeutet, daß es zwischen SR und Extrazellulärraum keine offenen Verbindungen in Form von großen Poren gibt. Im Rahmen der Diskussion über die elektromechanische Kopplung der Muskellamellen (s. auch Kapitel: Die Rolle der Füßchen in der elektromechanischen Kopplung) bedeu-

tet dies, daß eine direkte elektrische Verbindung, wie sie z.B. bei den "gap junctions" gefunden wird, zwischen SR und Zellmembran nicht besteht. Die Übereinstimmung dieser Befunde mit Markerexperimenten an der Froschtriade (FINK, GROCKI & LÜTTGAU, 1980a) lassen vielmehr vermuten, daß die Signalübermittlung auf die SR-Vesikel auf einer Ladungsverschiebung in der Zellmembran beruht, ähnlich wie es bei der Informationsübertragung vom T-System auf das SR der Vertebraten angenommen wird (CHANDLER, RAKOWSKY & SCHNEIDER, 1976; ADRIAN & ALMERS, 1976 und SCHNEIDER & CHANDLER, 1973).

Eine unerwartete Beobachtung, die im Zusammenhang mit den Markerexperimenten gemacht wurde, waren die Lanthanniederschläge im Inneren der Muskellamellen. Entgegen allen Erwartungen ist Lanthan offenbar in der Lage, die unverletzte Zellmembran zu passieren und sich im Intrazellulärraum an bestimmten Stellen abzulagern. Ähnliche Eigenschaften des Lanthans wurden bisher nur in Herzmuskelpräparaten festgestellt, die mit Lanthanlösungen perfundiert worden waren (WEIHE, HARTSCHUH, METZ & BRÜHL, 1977). Nicht perfundierte Herzmuskelzellen zeigten in der Regel keine Lanthanpräzipitate (MARTINEZ-PALOMO, BENITEZ & ALANIS, 1973 und FRANK, LANGER, NUDD & SERAYDARIAN, 1977). Diese Lanthanniederschläge waren in ihrer Form und ihrer intrazellulären Verteilung vergleichbar mit denen in der Rumpfmuskulatur: Vorwiegend lagen sie im Bereich der I-Bande der Sarkomere, zum Teil aber auch in der A-Bande nahe der M-Linie. Allerdings zeigte sich nie die für die Rumpfmuskulatur typische Doppelreihe an der M-Linie. Unter Hinweis auf die Arbeit von Weiß (1974) vermuteten Weihe und Mitarbeiter (1977), daß Lanthan innerhalb der Zellen Ca^{2+}-Bindungsstellen besetzt, so daß die von ihnen beobachteten Lanthanausfällungen Orte anzeigen, an denen normalerweise Ca^{2+} gebunden wird.

Wallimann et al. (1977) konnten nachweisen, daß die M-Linie zum Teil aus Kreatinkinase besteht, einem Enzym, das an der

Energiebereitstellung für die Muskelkontraktion beteiligt ist. Experimente, in denen die Kreatinkinase selektiv mit 2.4-Dinitrofluorbenzol vergiftet worden war (vgl. PEACHEY, 1968), hatten gezeigt, daß das Gift die räumliche Verteilung der Lanthanniederschläge beeinflußt. Sie waren unregelmäßig verteilt und hatten eine veränderte Form. Eine mögliche Erklärung ist, daß die Kreatinkinase an der Bildung der Präzipitate beteiligt ist. Es könnte sich z. B. das Lanthan mit dem bei der Bildung von Kreatin anfallenden Phosphat verbinden und als unlösliches La-Phosphat ausfallen. Ob der Marker in der Rumpfmuskulatur tatsächlich als Lanthanphosphat vorliegt, oder, wie von Weihe und Mitarbeitern (1977) vermutet, Ca^{2+}-Bindungsplätze markiert, ist bislang nicht geklärt. Dieses Problem soll jedoch Gegenstand zukünftiger Experimente mit Hilfe der Röntgenabsorptionsspektroskopie sein.

Ein weiteres Problem war die Frage, wie das Lanthan in die Muskelzellen eindringen kann. Bei den ersten Präparaten, die mit dieser Substanz markiert worden waren, handelte es sich um isolierte Rumpfmuskeln, bei denen die ventralen Ausläufer der Muskellamellen aus präparationstechnischen Gründen durchtrennt worden waren. Es lag zunächst nahe, hier den Ort des Eintritts von Lanthan zu vermuten. Präparate, in denen die Lamellen in ihrem gesamten Verlauf intakt waren, zeigten jedoch die gleichen Ergebnisse. Lanthan ist offenbar in der Lage, die Zellmembran zu überwinden. Auf welche Weise dies geschieht, ist bisher nicht bekannt. Aus den starken Veränderungen der Endomembransysteme der mit Lanthan behandelten Rumpfmuskeln wird jedoch deutlich, daß Lanthan offensichtlich membranöse Strukturen stark beeinflußt. So konnten auch Weihe et al. (1977) in Gefrierätzpräparaten von mit Lanthan behandelten Herzmuskelzellen u. a. eine Veränderung in der Partikelzusammensetzung der Zellmembran feststellen. Es ist demnach die Möglichkeit nicht auszuschließen, daß Lanthan die Zellmembran verändert, so daß sie für den Marker durchlässig wird.

4.3. Struktur des SRs bei verschiedenen Typen von Muskellamellen

Über die Struktur des sarkoplasmatischen Retikulums innerhalb der Muskellamellen von Branchiostoma gab es zwei sich scheinbar widersprechende Modellvorstellungen:

1. Flood (1969 und 1977) stellte die Hypothese von dem vesikulären Charakter des SRs auf und wurde von Henkart und Mitarbeiter (1976) gestützt.
2. Hagiwara und Mitarbeiter (1971) beschrieben dagegen ein verzweigtes zusammenhängendes Netzwerk dünner Tubuli.

Die vorliegende Arbeit legt dar, daß die verschiedenen Typen von Muskellamellen in der Rumpfmuskulatur ein unterschiedlich aufgebautes SR besitzen. Versuche, in denen zunächst nur die Hauptkomponente des Rumpfmuskels, die tiefen Lamellen, untersucht worden waren, hatten in diesem Zelltyp ein rein vesikuläres sarkoplasmatisches Retikulum nachgewiesen. Die zunächst an einfachen Längs- und Querschnitten untersuchten Strukturen ähnelten im wesentlichen den von Flood beschriebenen SR-Vesikeln. Der eigentliche Nachweis des vesikulären Charakters des SRs gelang jedoch erst in Tangential- und Serienschnittpräparaten. Es konnte eindeutig bewiesen werden, daß jedes der Vesikel eine eigenständige, in sich geschlossene Struktur darstellt und daß es zwischen den Vesikeln keine strukturelle Verbindung gibt. Ein Modell des SRs, wie es sich nach den in dieser Arbeit verwendeten Untersuchungsmethoden abzeichnet, ist in Tafel 27 dargestellt. Die SR-Vesikel gleichen demnach abgeflachten Bällen, die zwischen Myofibrille und Sarkolemma liegen und entsprechend der Sarkomerstruktur angeordnet sind: Die größten SR-Vesikel liegen fast ausnahmslos im Bereich der I-Bande, während an der A-Bande in der Regel nur kleinere Vesikel zu finden sind.

Der wichtigste Befund im Rahmen der Untersuchungen der SR-Struktur ist der, daß in den superfiziellen Lamellen ein SR

von ganz anderem Aufbau existiert. Das in Tafel 28 dargestellte Modell beruht vorwiegend auf der Analyse von Tangentialschnitten durch diese Zellart. Danach ist dieses SR aus Tubuli aufgebaut und damit prinzipiell zu unterscheiden vom SR der tiefen Lamellen. Die Tubuli bilden ein zusammenhängendes Netzwerk von unterschiedlicher Form. Man kann weitlumige Zisternen und flache Bereiche unterscheiden, die ähnlich den Vesikeln der tiefen Lamellen eine enge Beziehung zu der Sarkomerstruktur aufweisen: die flachen Bereiche fanden sich vorwiegend an der A-Bande und die weiten Zisternen lagen in der Regel gegenüber der I-Bande (vgl. Tafel 28).

Auf den ersten Blick fallen sofort die großen Übereinstimmungen zwischen diesem Modell und den Vorstellungen von Hagiwara et al. (1971) auf. Daher liegt die Vermutung nahe, daß diese Autoren Schnitte von superfiziellen Zellen untersuchten und die Ergebnisse verallgemeinerten. Einen weiteren Hinweis dafür liefert das elektronenmikroskopische Bild in ihrer Veröffentlichung von 1971 (S. 251, Plate I c und d). Im Zytoplasma der hier dargestellten Zelle sieht man Anhäufungen von Glykogenpartikeln, wie sie in dieser Menge eigentlich nur für die superfiziellen Lamellen charakteristisch sind.

Ebenfalls tubulär, aber von dem SR der superfiziellen Lamellen eindeutig zu unterscheiden, ist das sarkoplasmatische Retikulum der intermediären Muskellamellen. Dieses System besteht, wie in Tafel 29 dargestellt, aus weiten Zisternen, die durch dünne Tubuli miteinander verbunden sind. Alle Bereiche des SRs scheinen strukturell zusammenzuhängen. Im Gegensatz zum SR der beiden anderen Zelltypen findet man hier keine Beziehung zwischen der Sarkomerstruktur und dem Bau des SRs.

Flood (1968), der als erster die drei Zelltypen der Rumpfmuskulatur beschrieb, bezweifelte im Jahre 1977, daß man den intermediären Muskellamellen den Status einer separaten Zellart

geben könne. Er nahm vielmehr an, daß es sich bei den intermediären Muskellamellen um Frühstadien in der Entwicklung der tiefen Lamellen handelt. Mit dem Nachweis eines charakteristisch aufgebauten sarkoplasmatischen Retikulums in dieser Zellgruppe scheint jedoch die Eigenständigkeit der intermediären Lamellen als dritter Zelltyp sehr wahrscheinlich. Es wird vermutet, daß die intermediären Lamellen bei Branchiostoma den intermediären oder "rosa" Muskelfasern der Fische entsprechen (VAN RAAMSDONK, TE KRONNIE, POOL & VAN DE LAARSE, 1980; VAN RAAMSDONK, POOL & TE KRONNIE, 1978 und JOHNSTON, WARD & GOLDSPINK, 1974). Funktionell sind diese Muskelzellen dadurch charakterisiert, daß sie schnell kontrahieren, aber sehr ausdauernd sind gegenüber Ermüdung.

4.3.1. Das Volumen der SR-Vesikel

Morphometrische Analysen hatten ergeben, daß es wenig sinnvoll ist, einen Mittelwert für die Beteiligung der SR-Vesikel am Volumen der tiefen Lamellen anzugeben; denn das Volumen schwankt stark. Dennoch kann als sicher gelten, daß Flood (1977) mit seiner Annahme eines Anteils der Vesikel am intrazellulären Raum von 3 - 6 % das Volumen unterschätzte. Eingehende morphometrische Analysen ergaben, daß an der Zellbasis mindestens 5 % des intrazellulären Raums von SR-Vesikeln eingenommen werden. In der Peripherie der Muskelzellen werden dagegen im Durchschnitt 11 % SR gefunden. Vergleichbare Werte, nämlich 9 - 13 %, werden für die Froschmuskelfaser angegeben (vgl. LÜTTGAU & GLITSCH, 1976; LÜTTGAU & MOISESCU, 1978 und MOBLEY & EISENBERG, 1975).

4.4. Myosindichten

Es wäre möglich, daß die in den superfiziellen, intermediären und tiefen Lamellen gemessenen Unterschiede im Gehalt an Myosinfilamenten nicht die natürlichen Verhältnisse widerspiegeln, sondern auf einer unterschiedlichen Schrumpfung der Zellen während der Aufbereitung des Rumpfmuskels für das Elektronenmikroskop beruhen. Als Ursache für eine künstliche Schrumpfung von Geweben kommen hauptsächlich osmotische Einflüsse in Betracht. Schon bei der Fixierung der Präparate treten beachtliche Veränderungen des Zellvolumens ein. So konnten Eisenberg und Mobley (1975) am Beispiel der Froschmuskelfaser zeigen, daß allein die Glutaraldehydfixierung die Muskelfasern um 10 - 15 % ihres Volumens schrumpfen läßt. Nach Harris (1961) und Brandt et al. (1967) haben aber osmotisch bedingte Veränderungen von Muskelzellen keinen Einfluß auf die Dichte der Packung von Myofilamenten. Brandt und Mitarbeiter (1967) konnten zeigen, daß in Muskelzellen, die in hypertonischen Lösungen mehr als 50 % ihres Volumens verloren hatten, die Myofibrillen praktisch unverändert waren.

Nach der Glutaraldehydfixierung sind es Entwässerung und Einbettung, die eine Veränderung des Muskelgewebes bewirken (Eisenberg & Mobley, 1975). Insgesamt sind vollständig aufbereitete Muskelfasern auf 45 % ihres Ausgangsvolumens geschrumpft. Es ist jedoch sehr unwahrscheinlich, daß diese Schrumpfungsprozesse die unterschiedlichen Filamentdichten bewirken; denn superfizielle, intermediäre und tiefe Lamellen liegen im Rumpfmuskel unmittelbar nebeneinander, sind also während des Präparationsvorganges den gleichen Bedingungen ausgesetzt. Es ist deshalb nicht einzusehen, warum superfizielle Muskellamellen stärker schrumpfen sollten als die benachbarten tiefen Lamellen.

S. Page (persönliche Mitteilung) hielt es für möglich, daß die relativ lange Fixierzeit von 15 - 16 h sich auf die Struktur der Muskellamellen und damit auch auf die Filamentpackung auswirken könnte. Rumpfmuskeln, die nur 3 - 4 h in Glutaraldehyd fixiert worden waren, zeigten jedoch die gleichen strukturellen Gegebenheiten wie solche nach 16-stündiger Behandlung. Es scheint somit auch ausgeschlossen, daß das Fixiermittel selbst bei langer Einwirkungszeit die Anordnung der Filamente beeinflußt.

Generell ist die Möglichkeit einer artifiziellen Veränderung der Rumpfmuskulatur von Branchiostoma bei der Fixierung und den weiteren Schritten der Präparation nicht auszuschließen, doch ist aus den oben genannten Gründen eher anzunehmen, daß die unterschiedlichen Myosindichten der verschiedenen Lamellenarten tatsächlich den natürlichen Verhältnissen im Rumpfmuskel entsprechen.

Natürliche Unterschiede in der Filamentdichte können nach Brandt und Mitarbeitern (1967) zum Teil durch einen unterschiedlichen Kontraktionsgrad der Myofibrillen erklärt werden. Es gilt heute als erwiesen, daß der Abstand der Filamente untereinander eine direkte Funktion der Sarkomerlänge ist; bei starker Kontraktion ist die Filamentdichte niedriger als bei gedehnten Fasern. Längsschnitte durch die drei Lamellentypen hatten jedoch diese Erklärungsmöglichkeit ausgeschlossen. Die drei Zelltypen waren annähernd gleich kontrahiert.

Die Annahme erscheint berechtigt, daß die gemessenen Unterschiede im Filamentgehalt als morphologischer Ausdruck einer unterschiedlichen Funktion der Muskellamellen zu werten sind. Schon Flood (1968) vertrat die Meinung, daß die superfiziellen Lamellen funktionell den langsamen roten Muskelfasern der Vertebraten entsprächen, während die tiefen Lamellen einen schnell kontrahierenden Muskeltyp darstellen könnten. Aufgrund der

außergewöhnlichen Struktur des Rumpfmuskels konnten bisher keine direkten Messungen zur Kontraktionsgeschwindigkeit der superfiziellen Lamellen durchgeführt werden. Experimente von Guthrie (1967) und Guthrie und Banks (1970), die u. a. durch lokale Reizungen des Neuralrohres schnelle und auch langsame Kontraktionen der Rumpfmuskulatur hervorrufen konnten, deuten jedoch darauf hin, daß die superfiziellen Lamellen wahrscheinlich langsamer reagieren als die tiefen.

Bislang sind keine Untersuchungen bekannt geworden, in denen die Myofilamentdichte unterschiedlich funktionierender Muskelfasern miteinander verglichen wurde, so daß keine Beispiele hierzu angeführt werden können. Es gibt jedoch Hinweise darauf, daß sich auch in anderen Muskeltypen der Filamentgehalt der Zellen in ähnlicher Weise unterscheidet. So berichten Hulbert und Mitarbeiter (1979), daß die rote und weiße Muskulatur des Thunfisches aus jeweils zwei Zelltypen besteht, deren elektronenmikroskopischer Kontrast unterschiedlich ist. Die Ursache dieses Kontrastunterschiedes, so die Autoren, ist unbekannt.

Um weitere Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen Funktion von Muskelzellen und ihrer Filamentpackung zu finden, wurden in einer Reihe von Veröffentlichungen die Myosindichten der unterschiedlichsten Muskelfasertypen nachgezählt. Die Ergebnisse dieser Zählungen sind in Tabelle 1 zusammengefaßt. Innerhalb des hier untersuchten Spektrums von Tierarten konnten zum Teil erhebliche Unterschiede im Myosingehalt der untersuchten Muskelzellen gefunden werden. Eine Beurteilung dieser Messungen muß allerdings mit größter Vorsicht geschehen; denn aufgrund von Arbeiten anderer Autoren ist folgendes bekannt:

1. Der Abstand der Filamente hängt direkt vom Kontraktionszustand des Muskels ab (BRANDT et al., 1967).

2. Das Verhältnis von Aktin zu Myosin ist oft stark zugunsten des Aktins verschoben. So findet man in den langsamen Muskelfasern der Crustaceen einen zum Teil dreimal so hohen Aktingehalt wie in der Zuckungsfaser der Vertebraten (ATWOOD, 1972).

3. Es kann nicht beurteilt werden, welchen Einfluß Präparations- und Fixiertechniken auf die beschriebenen Muskeln hatten (vgl. EISENBERG & MOBLEY, 1975).

Trotz dieser Einschränkungen, die sicher einen großen Teil der gemessenen Unterschiede erklären, kann wohl mit einiger Sicherheit gesagt werden, daß Unterschiede im Filamentgehalt nicht unüblich sind. Daß man einen Zusammenhang zwischen der Funktion der Muskelzellen und ihrer Filamentdichte annehmen kann, zeigen zumindest die letzten beiden Werte der Tabelle. Hierbei wurde ein elektronenmikroskopisches Bild ausgemessen, auf dem nebeneinander eine schnelle und eine langsame Potamonmuskelfaser zu sehen waren. Die langsame Muskelfaser zeigte hier eine mehr als 50 % höhere Myosindichte als die schnelle Faser.

Da beide Fasern aus demselben Muskelstrang stammten, waren sie bei der Aufbereitung fürs Elektronenmikroskop identischen Bedingungen unterworfen und hatten die gleiche Fixierlänge gehabt. Es sollten deshalb die oben genannten Einschränkungen praktisch keinen Einfluß auf die Filamentdichte gehabt haben. Daher kann dieser Unterschied mit der Funktion der Zellen in Verbindung gebracht werden. Insgesamt weisen die Ergebnisse darauf hin, daß langsame Muskeln durch eine dichtere Packung von Myofilamenten gekennzeichnet sein können.

4.5. Strukturelle Gradienten innerhalb der tiefen Lamellen

Nach den vorliegenden Ergebnissen existieren innerhalb der tiefen Lamellen neben der unterschiedlichen Verteilung der SR-Vesikel auch Gradienten bezüglich der Zellform, der Filamentdich-

te und dem Gehalt an Mitochondrien. Es wird vermutet, daß diese Gradienten im Zusammenhang mit einem funktionellen Unterschied zwischen der Peripherie und der Basis der flächig ausgedehnten Muskellamellen zu sehen sind. Diese Vermutung stützt sich vor allem auf die Tatsache, daß die Muskellamellen radiär zur Chorda dorsalis angeordnet sind. Dies bedeutet, daß die basalen Myofibrillen der tiefen Lamellen wesentlich näher an der Bewegungsachse des Tieres liegen als die peripheren. Berechnungen, die auf der Grundlage von Originalquerschnitten erstellt wurden, zeigten, daß bei einer Rumpfbeugung die Basis der Zellen nur etwa 10 % der Längenänderung durchmacht, der die peripheren Myofibrillen unterworfen sind. Strukturell könnte dies nur durch 10 x kürzere basale Fibrillen kompensiert werden. Einzellamellenpräparationen von Melzer (1980) zeigten jedoch klar, daß die Lamellen zwar eine Trapezform besitzen, daß aber die Längenunterschiede zwischen Basis und Peripherie zur Erklärung der errechneten Funktionsunterschiede nicht ausreichen.

4.6. Mikrotubuli

Mikrotubuli werden als zylindrische Zellbestandteile definiert, deren Durchmesser 24 nm beträgt und die im Querschnitt hohl erscheinen (Übersichtsartikel: OLMSTEDT & BORISY, 1973). Diese subzelluläre Komponente ist weit verbreitet und stellt offensichtlich einen essentiellen Teil der Eukaryontenzelle dar. Ihre Funktion umfaßt nach den heutigen Vorstellungen so vielfältige Aufgaben wie die Chromosomenbewegung bei der Zellteilung, den intrazellulären Materialtransport, die Entwicklung und Aufrechterhaltung der Zellform, Zellbewegungen und die Übermittlung von Erregungen.

Mikrotubuli können schon in einem sehr frühen Entwicklungsstadium des Muskelgewebes nachgewiesen werden. Warren (1968) und

Fischman (1967 und 1972) beschrieben das Auftreten dieser Zellkomponenten noch vor dem Verschmelzen der embryonalen Myoblasten zu den mehrkernigen Myotuben. Im erwachsenen Muskel wurden Mikrotubuli vorwiegend im Herzmuskel der Wirbeltiere beschrieben (PAGE, E., 1967; RYBICKA, 1978; GOLDSTEIN & ENTMAN, 1976, 1979 und ENTMAN & GOLDSTEIN, 1976), aber auch in der Skelettmuskulatur (ENTMAN & GOLDSTEIN, 1976, VAN WINKLE & SCHWARTZ, 1978) und der Flugmuskulatur der Invertebraten (SMITH, 1966).

Nach Goldstein und Mitarbeitern (1979) und Van Winkle & Schwartz (1978) sind die Mikrotubuli in der Muskelzelle in drei Hauptrichtungen orientiert:

1. Im Zytoplasma zwischen den Myofibrillen liegen sie in achsialer Richtung.
2. Im Bereich der A-Bande der Sarkomere sind sie schräg zur Längsachse des Muskels orientiert.
3. In der Nähe der I-Bande liegen sie vorzugsweise quer zu den Myofibrillen.

In der Rumpfmuskulatur von Branchiostoma finden sich im Zytoplasma der Muskellamellen Mikrotubuli, deren Anordnung derjenigen aus der Herz- und Skelettmuskulatur weitgehend entspricht. In Anlehnung an die Arbeit von Goldman et al. (1979) wird angenommen, daß die Aufgabe dieser Mikrotubuli in erster Linie darin besteht, als Zytoskelett die außergewöhnliche Form der Muskellamellen zu erhalten. Als weitere Funktionen kommen auch intrazelluläre Bewegungs-und Kommunikationsaufgaben in Betracht (VAN WINKLE et al., 1978).

4.7. Mikrofilamente

Aus der Morphologie der quergestreiften Muskulatur sind nur wenige Beispiele bekannt, in denen extrafibrilläre Filamente mit aktinähnlichem Aufbau beschrieben werden. So geben Entman & Goldstein (1976) in einem kurzen Bericht an, daß in der Herz- und Skelettmuskulatur Mikrofilamente vorkommen. Diese Mikrofilamente liegen in enger Nachbarschaft zu den Mikrotubuli an der I-Bande.

Bei Branchiostoma lagen die Mikrofilamente ebenfalls vorwiegend an der I-Bande, wo sie in der Regel quer zu den Myofibrillen verliefen. In Längsrichtung der Lamellen orientierte Bündel dieser Filamente wurden in den apikalen Zonen der Muskellamellen gefunden. Es wird angenommen, daß die Mikrofilamente zusammen mit den Mikrotubuli das Zytoskelett der Muskellamellen bilden.

5. Z U S A M M E N F A S S U N G

1. Die Struktur der Rumpfmuskulatur des Lanzettfischchens Branchiostoma lanceolatum wurde im Licht- und Elektronenmikroskop untersucht. Hierzu wurden präparierte Einzelmuskeln und ganze Tiere verwendet. Die Präparate waren entweder nach der Standardmethode vorbereitet, gefriersubstituiert oder mit Tanninsäure behandelt.

2. Der Rumpfmuskel setzte sich aus verschiedenen dünnen Zellplatten, den Muskellamellen, zusammen, die gemäß ihrer Lage im Myotom als tiefe, intermediäre und superfizielle Lamellen bezeichnet werden. Diese Zellen waren nicht mehr als 1 - 2 µm dick und lagen im Tierquerschnitt radial zur Chorda dorsalis. Sie wurden getrennt durch einen schmalen extrazellulären Spalt, der mit 2 - 4 % am Gesamtvolumen der Myotome beteiligt war.

3. Dieser extrazelluläre Raum war frei zugänglich für Markersubstanzen wie Lanthan und Ferritin. Es wurden keine Diffusionsbarrieren zwischen den Muskellamellen beobachtet. Als nicht zugänglich für die Markermoleküle erwies sich das sarkoplasmatische Retikulum (SR) der Muskellamellen. Dieses direkt unter dem Sarkolemma liegende Membransystem hatte in keinem Fall Lanthan- oder Ferritinmoleküle in seinem Inneren. Im Gegensatz dazu war die Zellmembran für Lanthan durchlässig. Der Marker lagert sich (a) unter der Zellmembran, (b) an der Z-Scheibe und (c) in einer Doppelreihe an der M-Linie ab. Muskeln, die mit 2.4-Dinitrofluorbenzol (2.4-DNFB), einem Gift, welches die enzymatische Funktion der Kreatinkinase hemmt, behandelt worden waren, zeigten noch Lanthanniederschläge im Intrazellulärraum, jedoch waren sie selten und hatten eine veränderte Form.

4. Innerhalb der tiefen Lamellen konnte ein vesikuläres SR nachgewiesen werden. Diese Vesikel waren strukturell voneinander isoliert, unterschiedlich groß und entsprechend der Sarkomerstruktur angeordnet. Die großen Vesikel lagen vorwiegend im Bereich der I-Bande und die kleineren an der A-Bande. Im Verlauf der tiefen Lamellen von der lateralen zur medialen Oberfläche der Myotome veränderte sich das SR von großlumigen Gebilden zu flachgedrückten Zisternen. Das durchschnittliche Volumen der SR-Vesikel nahm dabei von 11 % in der Peripherie auf 6 % im Mittelteil und 5 % an der Basis der tiefen Lamellen ab. Gleichzeitig verringerte sich der Mitochondriengehalt auf weniger als 30 %, verglichen mit der Peripherie, und die Myosinfilamentdichte war an der Basis mehr als doppelt so hoch wie in der Peripherie. Zusätzlich veränderte sich die Form der Fibrillen, und die Myosinfilamente waren an der Basis im Durchschnitt um 17 % länger. In den tiefen Lamellen wurde außerdem ein einfaches System extrazellulärer Tubuli entdeckt, das in wesentlichen Eigenschaften mit dem T-System der höheren Vertebraten übereinstimmte. So nahmen die Tubuli in charakteristischer Weise Kontakt mit den SR-Vesikeln auf. Oft wurden die Kanäle von zytoplasmatischen Ausläufern der Nachbarzellen begleitet.

5. Die SR-Vesikel und die Zellmembran waren in der Regel durch einen 11 nm breiten Spaltraum getrennt, der durch regelmäßig angeordnete elektronendichte Füßchen überbrückt wurde. Diese Füßchen waren rechteckig angeordnet und in ihrer Form, Größe und Struktur mit den Füßchen der Vertebratentriade vergleichbar. In einigen Fällen zeigten diese Füßchen eine helle zentrale Achse, die sich vom SR zum Sarkolemma erstreckte.

6. Der beobachtete licht- und elektronenmikroskopische Kontrastunterschied zwischen tiefen, intermediären und superfiziellen Lamellen basierte vorwiegend auf einer unterschiedlichen Filamentdichte der Myofibrillen. Während die superfiziellen Lamellen mit 817 Myosinfilamenten/μm^2 die dichteste Fila-

mentpackung hatten, war die Filamentdichte in den tiefen Lamellen am geringsten (390 Myosinfilamente/μm^2). Die intermediären Lamellen hatten 586 Myosinfilamente/μm^2. In allen Zellen war das Aktin/Myosin Verhältnis 2 : 1. Ebenfalls gleich in allen Zelltypen war der Kontraktionszustand der Myofibrillen.

7. Die superfiziellen Lamellen unterschieden sich von den tiefen Lamellen zusätzlich durch den Aufbau ihrer Mitochondrien und durch ihr SR-System. Das SR der superfiziellen Lamellen war tubulär und bildete ein kontinuierliches Netzwerk, das die Myofibrillen eng umschloß. Relativ weitlumige SR-Zisternen wurden im Bereich der I-Bande gefunden. Die SR-Areale an der A-Bande waren schmal. Beide Anteile waren miteinander verbunden und reich "gefenstert".

8. Ein weiteres strukturell unterschiedliches SR wurde in den intermediären Zellen gefunden. Hier lagen im Zytoplasma Ansammlungen von großlumigen SR-Zisternen, die untereinander durch ein grobmaschiges Netzwerk dünner Tubuli verbunden waren. Im Gegensatz zu den tiefen und superfiziellen Lamellen standen diese Zisternen offenbar nicht in Beziehung zur Sarkomerstruktur der Myofibrillen.

9. In allen drei Zelltypen wurden im Zytoplasma Mikrotubuli und extrafibrilläre Filamente gefunden. Diese Strukturen lagen entweder achsial, schräg oder quer zur Muskellängsrichtung in den Lamellen.

10. Die Ergebnisse werden im Zusammenhang mit Fragen der "elektromechanischen Kopplung" in Muskelzellen diskutiert. Aufgrund der physiologischen Versuche von Melzer (1980) und der hier vorgelegten morphologischen Ergebnisse ergibt sich, daß die wesentlichen Schritte der elektromechanischen Kopplung bei Branchio-

stoma mit denen bei Vertebraten übereinstimmen. Danach ist die Rolle des sarkoplasmatischen Retikulums nicht darauf beschränkt, das bei einem Aktionspotential in den intrazellulären Raum eingeströmte Ca^{2+} zu resorbieren (HAGIWARA et al., 1971), sondern es scheint sowohl an der Kalziumspeicherung, der Ausschüttung der Ionen nach der Aktivierung als auch an ihrer anschließenden Resorption beteiligt zu sein.

6. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

ADRIAN, R.H. & ALMERS, W. (1976): Charge movement in the membrane of striated muscel. J. Physiol., Lond., 254, 339-360.

ATWOOD, H.L. (1972): Crustacean muscle. In: The Structure and Function of Muscle, Vol. I. Ed. G. H. Bourne, Academic Press Inc., Lond. & New York, S. 422-489.

BERTAUD, W.S., RAYNS, D.G. & SIMPSON, F.O. (1970): Freeze-etch studies on fish skeletal muscle. J.Cell Sci., 6, 537-557.

BRANDT, P.W., LOPEZ, E., REUBEN, J.P. & GRUNDFEST, H. (1967): The relationship between myofilament packing density and sarcomere length in frog striated muscle. J.Cell Biol. 33, 255-263.

BRANDT, P.W., REUBEN, J.P., GIRARDIER, L. & GRUNDFEST, H. (1965): Correlated morphological and physiological studies on isolated single muscle fibers: I. Fine structure of the crayfish muscle fiber. J.Cell Biol. 25, 233-260.

CAPUTO, C. (1978): Excitation and contraction processes in muscle. Ann.Rev.Biophys.Bioeng. 7, 63-83.

CHANDLER, W.K., RAKOWSKI, R.F. & SCHNEIDER, M.F. (1976): Effects of glycerol treatment and maintained depolarization on charge movement in skeletal muscle. J.Physiol., Lond., 254, 285-316.

COSTANTIN, L.L. (1975a): Contractile activation in skeletal muscle. Prog.Biophys.Molec.Biol., 29, 197-224.

COSTANTIN, L.L. (1975b): Electrical properties of the transverse tubular system. Fed.Proc., 34 (5), 1390-1394.

DESMEDT, J.E. (1953): Electrical activity and intracellular sodium concentration in frog muscle. J.Physiol., Lond., 121, 191-205.

EASTWOOD, A.B., WOOD, D.S. & REUBEN, J.P. (1978): Unusual thick and thin filament packing in a crustacean muscle. J.Cell Biol., 77, 48-58.

EBASHI, S. (1976): Excitation-contraction coupling. Ann.Rev. Physiol. 38, 293-313.

EBASHI, S. (1980): Regulation of muscle contraction. Proc.R. Soc. Lond. B 207, 259-286.

EDELMANN, L. & MORGENSTERN, E. (1979): On the role of glutaraldehyde for cryo protection in freeze-fracturing of cells and tissues. Mikroskopie, Wien, 35, 61-65.

EISENBERG, B.R., EISENBERG, R.S. & GILAI, A. (1979): Structural changes in the T-SR junction in actively contracting skeletal muscle. Biophys.J. 25, 118a

EISENBERG, B.R. & GILAI, A. (1979): Structural changes in single muscle fibers after stimulation at a low frequency. J.Gen.Physiol., 74, 1-16.

EISENBERG, B.R. & MOBLEY, B.A. (1975): Size changes in single muscle fibers during fixation and embedding. Tissue & Cell, 7 (2), 383-387.

ENDO, M. (1977): Calcium release from the sarcoplasmic reticulum. Physiol.Rev., 57, 71-108.

ENTMAN, M.L. & GOLDSTEIN, M.A. (1976): Microtubules in the heart: A possible role in excitation contraction coupling Circulation, 54, II-114.

FABIATO, A. & FABIATO, F. (1977): Calcium release from the sarcoplasmic reticulum. Circ.Res., 40, 119-129.

FECHTER, H. (1971): Manteltiere, Schädellose, Rundmäuler. Sammlung Göschen; W.de Gruyter & Co., Berlin.

FINK, R., GROCKI, K. & LÜTTGAU, H.Ch. (1980a): The effect of energy deprivation and hyperosmolarity upon tubular structures and electrophysiological parameters of muscle fibres. Europ.J.Cell Biol., 21, 101-108.

FINK, R., GROCKI, K. & LÜTTGAU, H.Ch. (1980b): Na/K selectivity, ion conductances and net fluxes of K^+ and Na^+ in metabolically exhausted muscle fibres. Europ.J.Cell Biol., 21, 109-115.

FISCHMAN, D.A. (1967): An electron microscope study of myofibril formation in embryonic chick skeletal muscle. J.Cell Biol., 32, 557-575.

FISCHMAN, D.A. (1972): Development of striated muscle. In: Structure and Function of Muscle, Vol.I. Ed.G.H.Bourne; Academic Press Inc., London & New York, S. 75-148.

FLOOD, P.R. (1966): A peculiar mode of muscular innervation in amphioxus. Light and electron microscopic studies of the so called ventral roots. J.Comp.Neurol. 126, 181-217.

FLOOD, P.R. (1968): Structure of the segmental trunk muscle in amphioxus. Z.Zellforsch.Mikrosk.Anat. 84, 389-416.

FLOOD, P.R. (1969): The sarcoplasmic reticulum of amphioxus trunk muscle (Abstract). J.Ultrastruct.Res. 29, 569.

FLOOD, P.R. (1977): The sarcoplasmic reticulum and associated plasma membrane of trunk muscle lamellae in Branchiostoma lanceolatum (Pallas). Cell Tiss.Res., 181, 169-196.

FRANK, J.S., LANGER, G.A., NUDD, L.M. & SERAYDARIAN, K. (1977): The myocardial cell surface, its histochemistry, and the effect of sialic acid and calcium removal on its structure and cellular ionic exchange. Circ.Res. 41 (5), 702-714.

FRANZ, V. (1927): Morphologie der Akranier. Ergebn.Anat. und Entw.Gesch. 27, 464-692.

FRANZINI-ARMSTRONG, C. (1964): Fine structure of sarcoplasmic reticulum and transverse tubular system in muscle fibers. Fed.Proc., 23, 887-895.

FRANZINI-ARMSTRONG, C. (1969): Experimental studies of the triadic junction in muscle fibers. J.Cell Biol., 43, 38a-39a.

FRANZINI-ARMSTRONG, C. (1970a): Studies of the triad: I. Structure of the junction in frog twitch fibers. J.Cell Biol., 47, 488-499.

FRANZINI-ARMSTRONG, C. (1970b): Structure of the triadic junction in different fiber types. J.Cell Biol., 47, 64a.

FRANZINI-ARMSTRONG, C. (1970c): Natural variability in the length of thin and thick filaments in single fibers from a crab Portunus deputator. J.Cell Sci., 6, 559-592.

FRANZINI-Armstrong, C. (1971): Studies of the Triad: II. Penetration of tracers into the junctional gap. J.Cell Biol. 49, 196-203.

FRANZINI-ARMSTRONG (1972a): Studies of the triad: III. structure of the junction in fast twitch fibers. Tissue & Cell, 4(3), 469-478.

FRANZINI-ARMSTRONG, C. (1972b): Details of the triadic junction structure. J.Cell Biol., 55, 78a.

FRANZINI-ARMSTRONG, C. (1973a): Membranous systems in muscle fibers. In: Structure and Function of Muscle, Vol.II, Ed. G.H.Bourne; Academic Press Inc., London & New York, S. 532-619.

FRANZINI-ARMSTRONG, C. (1973b): Studies of the traid: IV. structure of the junction in frog slow fibers. J.Cell Biol. 56, 120-128.

FRANZINI-ARMSTRONG, C. (1974): Freeze fracture of skeletal muscle from the tarantula spider. J.Cell Biol. 61, 501-513.

FRANZINI-ARMSTRONG, C. (1975): Membrane particles and transmission of the triad. Fed.Proc. 34 (5), 1975.

FRANZINI-ARMSTRONG, C., HEUSER, J.E., REESE, T.S., SOMLYO, A.P. & SOMLYO, A.V. (1978): T-tubule swelling in hypertonic solutions: A freeze substitution study. J.Physiol. Lond., 283, 133-140.

FRANZINI-ARMSTRONG, C. & PORTER, K.R. (1964a): Sarcolemmal invaginations constituting the T-system in fish muscle fibers. J.Cell Biol., 22, 675-696.

FRANZINI-ARMSTRONG, C. & PORTER, K.R. (1964b): Sarcolemmal invaginations and the T-system in fish skeletal muscle. Nature, Lond., 202, 355-357.

FRANZINI-ARMSTRONG, C. & PORTER, K.R. (1964c): The Z-disc of skeletal muscle fibres. Z.Zellforsch., 61, 661-672.

GOLDSTEIN, M.A. & ENTMAN, M.L. (1976): Microtubules and the isolation of tubulin from adult canine myocardium. J.Cell Biol., 70, 316a.

GOLDSTEIN, M.A. & ENTMAN, M.L. (1979): Microtubules in the mammalian heart muscle. J.Cell Biol., 80, 183-195.

GROCKI, K. & MELZER, W. (1978): Influence of extracellular free Ca^{2+}- and Mg^{2+}-concentration on contractile activity in amphioxus muscle. Pflügers Arch., 373, R 59.

GUTHRIE, D.M. (1967): Control of muscular contractions by spinal neurons in amphioxus (Branchiostoma lanceolatum) Nature. Lond., 216, 1224-5.

GUTHRIE, D.M. & BANKS, J.R. (1970): Observations on the electrical and mechanical properties of the myotomes of the lancelet (Branchiostoma lanceolatum). J.exp.Biol., 52, 401-417.

HAGIWARA, S., HENKART, M.P. & KIDOKORO, Y. (1971): Excitation-contraction coupling in amphioxus muscle cells. J.Physiol. Lond., 219, 233-251.

HARRIS, E.J. (1961): The site of swelling in muscle. J.Cell Biol. 9, 502.

HARRIS, E.J. (1963): Distribution and movement of muscle chloride. J.Physiol., Lond., 166, 87-109.

HENKART, M., LANDIS, D.M.D. & REESE, T.S. (1976): Similarity of junctions between plasma membranes and endoplasmic reticulum in muscle and neurons. J.Cell Biol., 70, 338-347.

HOYLE, G. (1965): Nature of the excitatory sarcoplasmatic reticular junction. Science, 149, 70-72.

HULBERT, W.C., GRUPPY, M., MURPHY, B. & HOCHACHKA, P.W. (1979): Metabolic sources of heat and power in tuna muscles: I.Muscle fine structure. J.exp.Biol., 82, 289-301.

JOHNSTON, J.A., WARD, P.S. & GOLDSPINK, G. (1975): Studies on the swimming musculature on the rainbow trout: I.Fibre types. J.Fish Biol. 7, 451-458.

KELLY, D.E. (1967a): Fine structural analysis of muscle triad junctions. J.Cell Biol., 35, 66A.

KELLY, D.F. (1967b): Models of muscle Z-band fine structure based on a looping filament configuration. J.Cell Biol., 34, 827-840.

KELLY, D.E. (1969): The fine structure of skeletal muscle triad junctions. J.Ultrastruct.Res., 29, 37-49.

KELLY, D.E. (1978): Triadic junctional structure revealed by freeze-fracture of newt skeletal muscle. J.Cell Biol., 79, 328a.

KELLY, D.E. & CAHILL, M.A. (1969): Skeletal muscle triad junction fine structure; new observations regarding dimples of the sarcoplasmic reticulum terminal cisternae. J.Cell Biol., 43, 66a.

KELLY, D.E. & KUDA, A.M. (1979): Subunits of the triadic junction in fast skeletal muscle as revealed by freeze-fracture. J.Ultrastruct.Res., 68, 220-233.

KNAPPEIS, G.G. & CARLSEN, F. (1962): The ultrastructure of the Z-disc in skeletal muscle. J.Cell Biol., 13, 323-335.

KNAPPEIS, G.G. & CARLSEN, F. (1968): The ultrastructure of the M-line in skeletal muscle. J.Cell Biol., 38, 202-211.

KUKENTHAL, W., MATTHES, E. & RENNER, M. (1971): Leitfaden für das Zoologische Praktikum. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

LÜTTGAU, H.Ch. & GLITSCH, H. (1976): Membrane physiology of nerve and muscle fibres. Fortschr. Zool., 24, 1-132.

LÜTTGAU, H.Ch. & MOISESCU, D.G. (1978): Ion movements in skeletal muscle in relation to the activation of contraction. In: Physiology of Membrane Disorders. Ed.T.Andreoli, J.Hoffmann and D. Fanestil; Plenum Publishing Corporation, New York, S. 493-515.

MARKHAM, R., FREY, S. & HILLS, B. (1963): Methods for enhancement of immage detail and accentuation of structure in electron microscopy. Virology, 20, 88-102.

MARTINEZ-PALOMO, A., BENITEZ, D. & ALANIS, J. (1973): Selective deposition of lanthanum in mammalian cardiac cell membranes. J.Cell Biol., 58, 1-10.

MEIER, W. (1977): Untersuchungen zur Muskelphysiologie des Lanzettfischchens (Branchiostoma lanceolatum). Diplomarbeit, Abteilung Biologie der Ruhr-Universität Bochum.

MEIER, W. (1980): Die Aktivierung der Myotome von Branchiostoma lanceolatum. Dissertation, Abteilung Biologie der Ruhr-Universität Bochum.

MEIER, W. & GROCKI, K. (1980): Morphological and physiological aspects of excitation-contraction coupling in Branchiostoma myotomes. Proc.Int.Union Physiol.Sci., Budapest.

MOBLEY, B.A. & EISENBERG, B.R. (1975): Sizes of components in frog skeletal muscle measured by methods of stereology. J.Gen.Physiol. 66, 31-45.

NUNZI, G., FRANZINI-ARMSTRONG, C. & PEACHEY, L.D. (1979): Intramembranous particles and feet in triads of a fast striated muscle. J.Cell Biol., 83, 381a.

OLMSTED, J.B. & BORISY, G.G. (1973): Microtubules. Ann.Rev. Biochem. 42, 507-540.

PAGE, E. (1967): Tubular systems in Purkinje cells of the cat heart. J.Ultrastruct.Res., 17, 72-83.

PEACHEY, L.D. (1961): Structure of the longitudinal body muscle of amphioxus. J.biophys.biochem.Cytol., 10, Suppl., 153-176.

PEACHEY, L.D. (1965). The sarcoplasmic reticulum and transverse tubules of the frog's sartorius. J.Cell Biol. 25, 209-231.

PEACHEY, L.D. (1968): Muscle. Ann.Rev.Physiol. 30, 401-440.

PEACHEY, L.D. & EISENBERG, B.R. (1975): The T-system and striations of frog skeletal muscle are spiral. Biophys. J., 15, 253a.

PEACHEY, L.D. & EISENBERG, B.R. (1978): Helicoids in the T-system and striations of the frog skeletal muscle fibers seen by high voltage electron microscopy. Biophys.J. 22, 145-154.

PODOLSKY, R.J. (1975): Muscle activation: The current status. Fed.Proc. 34 (5), 1374-1378.

PUSCH, H. (1978): The determination of extracellular space using hemoglobin. Experientia, 34, 1108.

RAYNS, D.G., DEVINE, C.E. & SUTHERLAND, C.L. (1975): Freeze fracture studies of membrane systems in vertebrate muscle: I. Striated muscle. J.Ultrastruct.Res. 50, 306-321.

REVEL, J.P. & KORNOVSKY, M.J. (1967): Hexagonal arrey of subunits in intracellular junction of the mouse heart and liver. J.Cell Biol., 33, C 7.

ROSENBLUTH, J. (1965): Ultrastructural organization of obliquely strated muscle fibers in Ascaris lumbricoides. J.Cell Biol. 25, 495-515.

ROSENBLUTH, J. (1969): Ultrastructure of dyards in muscle fibers of Ascaris lumbricoides. J.Cell Biol. 42, 817-825.

RYBICKA, K. (1978): Microtubules in the ventricular specialized conducting fibers of the dog heart. J.Mol.Cell Cardiol. 10, 409-414.

SAWADA, H., ISHIKAWA, H. & YAMADA, E. (1978): High resolution scanning electron microscopy of frog sartorius muscle. Tissue & Cell, 10 (1), 179-190.

SCHNEIDER, M.F. & CHANDLER, W.K. (1973): Voltage dependent charge movements in skeletal muscle: A possible step in excitation-contraction coupling. Nature, Lond., 242, 244-246.

SMITH, D.S. (1965): The flight muscles of insects. Sci.Am. 212 (6), 76-89.

SMITH, D.S. (1966): The structure of intersegmental muscle fibers in an insect Periplaneta americana L. J.Cell Biol. 29, 449-459.

SMITH, D.S., BAERWALD, R.J. & HART, M.A. (1975): The distribution of orthogonal assemblies and other intercalated particles in frog sartorius and rabbit sarcospinalis muscle. Tissue & Cell 7 (2), 369-382.

SOMLYO, A.V. (1978): Membrane bridges across the triadic gap after tannic acid fixation. Biophys.J., 21, 56a.

SOMLYO, A.V. (1979): Bridging structures spanning the junctional gap at the triad of skeletal muscle. J.Cell Biol. 80, 743-750.

STAEHLIN, L.A. (1974): Structure and function of intercellular junctions. Int.Rev.Cytol., 39, 191-283.

STAEHLIN, L.A. & HULL, B.E. (1978): Junctions between living cells. Sci.Amer., 238, 140-150.

STEINBRECHT, R.A. (1976): Freeze substitution and freeze fracturing of insect sensilla without cryoprotectants. In Proc.6th Eur.Congr.Electron Microscopy Jerusalem (ed. Y.Ben-Shaul), Vol. II, S. 111-113. Intertal, Givatayim.

STEINBRECHT, R.A. (1980): Cryofixation without cryoprotectants. Freeze substitution and freeze etching of an insect olfactory receptor. Tissue & Cell 12 (1), 73-100.

VAN RAAMSDONK, W., POOL, C.W. & TE KRONNIE, G. (1978): Differentiation of muscle fiber types in the teleost Brachydanio rerio. Anat.Embryol., 153, 137-155.

VAN RAAMSDONK, W., TE KRONNIE, G., POOL, C.W. & VAN DE LAARSE, W. (1980): An immune histochemical and enzymic characterization of the muscle fibres in myotomal muscle of the teleost Brachydanio rerio, Hamilton-Buchanan. Acta histochem., 67, 200-216.

VAN WINKLE, W.B. & SCHWARTZ, A. (1978): Morphological and biochemical correlates of skeletal muscle contractility in the cat: I. Histochemical and electron microscopical studies. J.Cell.Physiol. 97, 99-120.

WALKER, S.M. & SCHRODT, G.R. (1965): Continuity of the T-system with the sarcolemma in rat skeletal muscle fibers. J.Cell Biol., 27, 671-677.

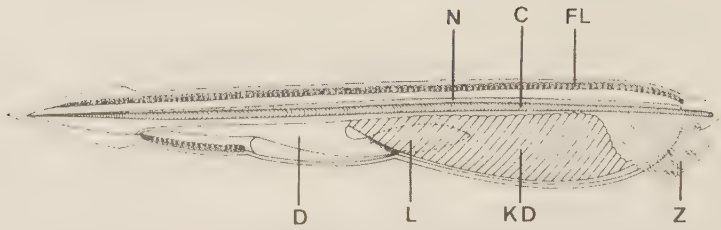
WALLIMANN, T., TURNER, D.C. & EPPENBERGER, H.M. (1977): Localization of creatine kinase isoenzymes in myofibrils: I. Chicken skeletal muscle. J.Cell Biol. 75, 297-317.

WARREN, R.H. (1968): The effect of colchicine on myogenesis in vivo in Rana pipiens and Rhodnius prolixus (Hemiptera). J.Cell Biol. 39, 544-555.

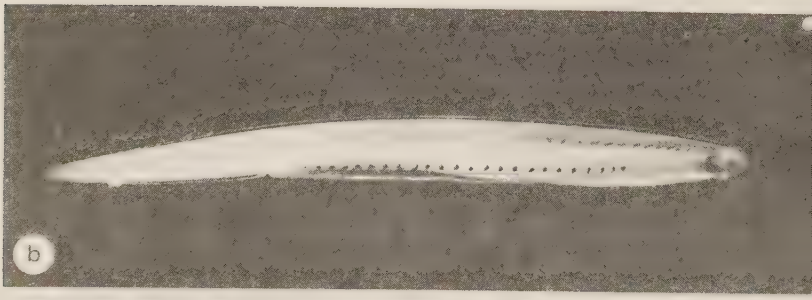
WEIHE, E., HARTSCHUH, W., METZ, J. & BRÜHL, U. (1977): The use of ionic lanthanum as a diffusion tracer and as a marker for calcium binding sites. Cell Tissue Res. 178, 285-302.

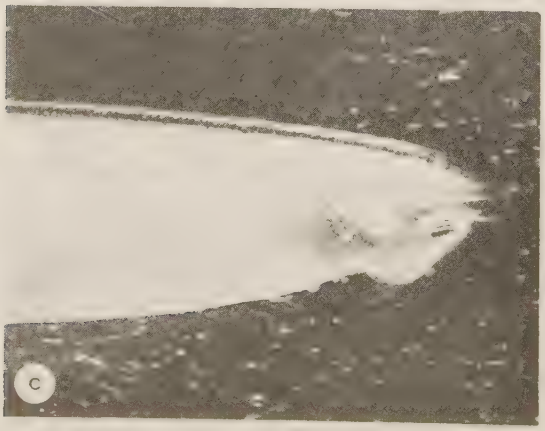
WEIß, G.B. (1974): Cellular pharmacology of lanthanum. Ann.Rev.Pharmacol. 14, 343-354.

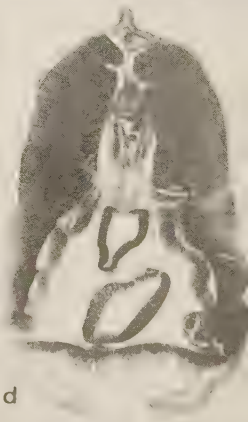
ZAMPIGHI, G., VEGARA, J. & RAMON, F. (1975): On the connection between the transverse tubules and the plasma membrane in frog semitendinosus skeletal muscle. J.Cell Biol. 64, 734-740.



a







Tafel 1

(a) Schematische Darstellung des Körperbaus von Branchiostoma lanceolatum. Die segmentierten Gonaden und die Myotome des Tieres sind nicht dargestellt (verändert nach KÜKENTHAL, MATTHES & RENNER, 1971).

Fl - Flossensaum, C - Chorda dorsalis,
N - Neuralrohr, D - Darmrohr, L - Leber,
KD- Kiemendarm, Z - Mundzirren.

(b) Seitenansicht eines 4.5 cm langen erwachsenen Lanzettfischchens.

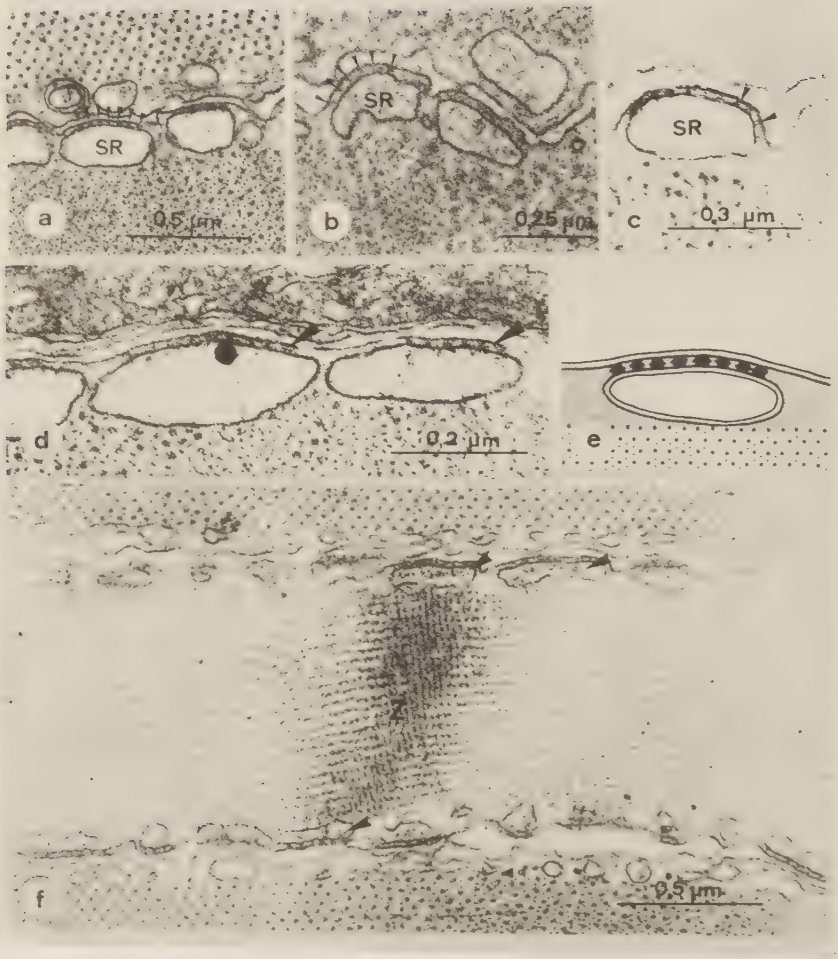
(c) Vergrößerung der Rostralregion. Deutlich zu erkennen ist die segmentierte, winklig angeordnete Rumpfmuskulatur.

(d) Semidünnschnitt eines Tieres auf der Höhe des Leberblindsacks. Der größte Teil des Schnittes wird von der stark ausgebildeten Rumpfmuskulatur eingenommen (T).

SR
M
1 µm
a
Z
2 µm
b

Tafel 2

Elektronenmikroskopischer Längs- (a) und Querschnitt (b) durch mehrere tiefe Lamellen. Wie bei den Vertebraten bestehen die Myofibrillen aus Sarkomeren mit der für die Skelettmuskulatur typischen Bänderung. Die Länge der Sarkomere beträgt je nach Kontraktionszustand 1.8 bis 2.6 µm. Die SR-Vesikel liegen unmittelbar unter der Zellmembran, die größten Vesikel im Bereich der I-Bande. Charakteristisch für die Vesikel der tiefen Lamellen sind die scharf abgegrenzten elektronendichten Grana (Pfeilköpfe). (a) - 24 000 x, (b) - 17 500 x.
SR - sarkoplasmatisches Retikulum, M - Mitochondrien,
Z - Z-Scheibe.


SR
a
0,5 µm
SR
b
0,25 µm
SR
c
0,3 µm
d
0,2 µm
e
Z
f
0,5 µm

Tafel 3

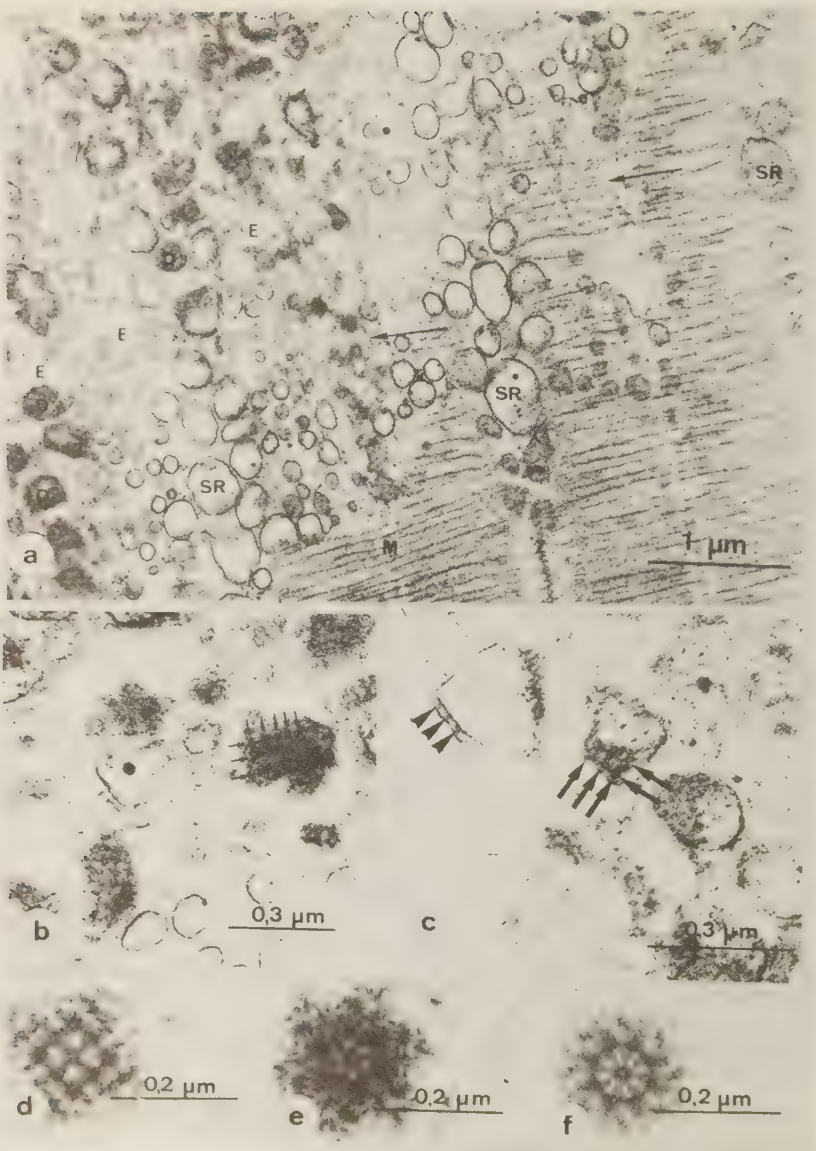
(a, b, c) SR-Vesikel (SR) der tiefen Lamellen und ihre "junctional feet". Der Kontaktspalt zwischen der Zellmembran und den SR-Vesikeln wird überbrückt von elektronendichten Strukturen, die in Form und Anordnung den Füßchen an der Triade der Vertebraten ähnlich sind. Sie haben einen regelmäßigen Abstand und sind in der Regel etwa 10 nm lang. In Standardpräparaten (a) wie auch in gefriersubstituiertem Gewebe (c) wurden Füßchen beobachtet, die eine helle zentrale Achse hatten (Pfeile). (a) - 50 000 x, (b) - 72 000 x, (c) - 87 000 x.

Wenn in Tanninsäure fixiert wurde, waren die Zell- und Endomembranen gut erhalten, aber die Darstellung der Füßchen schien beeinträchtigt (b).

Genau in der Mitte des Spaltraumes zwischen SR und Zellmembran zeigt sich oft eine dünne Linie. In regelmäßigen Abständen ist der Kontrast dieser Linie erhöht (d). Es wird vermutet, daß diese Linie das Bild knapp angeschnittener sog. "diamond shaped" Füßchen darstellt. 135 000 x.

(e) Modell der Füßchen in Branchiostoma (nach FRANZINI-ARMSTRONG, 1974, 1975).

(f) Material innerhalb der SR-Vesikel. Im Inneren der Vesikel an der I-Bande der Myofibrillen ist häufig eine diffuse Lamina elektronendichten Materials zu erkennen (Z - Z-Scheibe). Sie verläuft parallel zum Kontaktspalt. Das scharf abgegrenzte Granum in (d) ist charakteristisch für die tiefen Lamellen. (f) - 56 000 x.

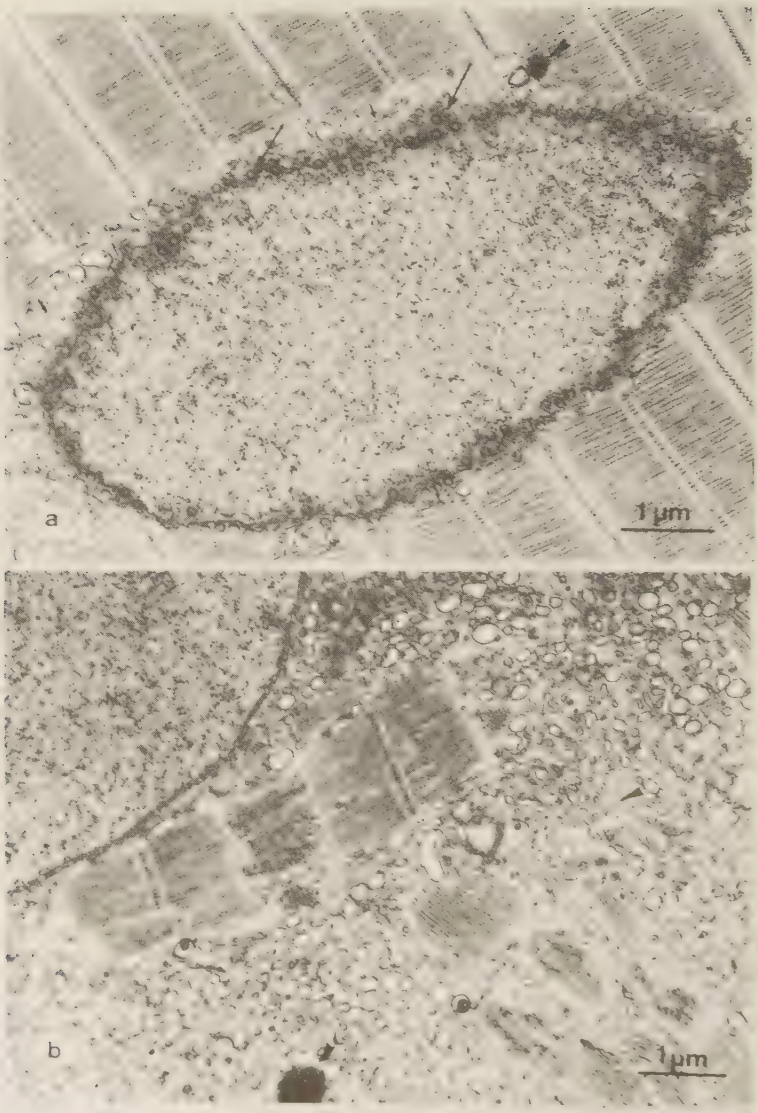

E
E
E
SR
SR
SR
M
a
1 µm
b
0,3 µm
c
0,3 µm
d
0,2 µm
e
0,2 µm
f
0,2 µm

Tafel 4

(a) Flachschnitt durch eine tiefe Lamelle. Das sarkoplasmatische Retikulum (SR) dieses Zelltyps besteht aus einzelnen strukturell voneinander getrennten Vesikeln. Reihen großlumiger Vesikel liegen in der Region der I-Bande, während die kleineren Vesikel vorwiegend im A-Banden-Bereich zu finden sind. Die diadenartige Anordnung von SR und Zellmembran wird erkennbar an Strukturen mit hohem elektronenmikroskopischem Kontrast. Solche Areale liegen auf der linken Seite der Abbildung (D). Der Pfeil markiert filamentöses Material, das quer zur Längsachse des Muskels verläuft. 28 000 x.
E - extrazellulärer Raum, Z - Z-Scheibe, M - M-Linie

(b) und (c) Vergrößerungen der Diadenstruktur, die von den Membranen des SRs und der Zelloberfläche gebildet wird. Die Aufsicht zeigt die regelmäßige Anordnung der Füßchen, die oft ein helles Zentrum besitzen. Die Pfeile markieren Reihen nebeneinanderliegender Füßchen. (b) - 70 000 x, (c) - 62 000 x.
(c) Quer- (Pfeile) und Längsschnitt (Pfeilköpfe) durch die Füßchen.

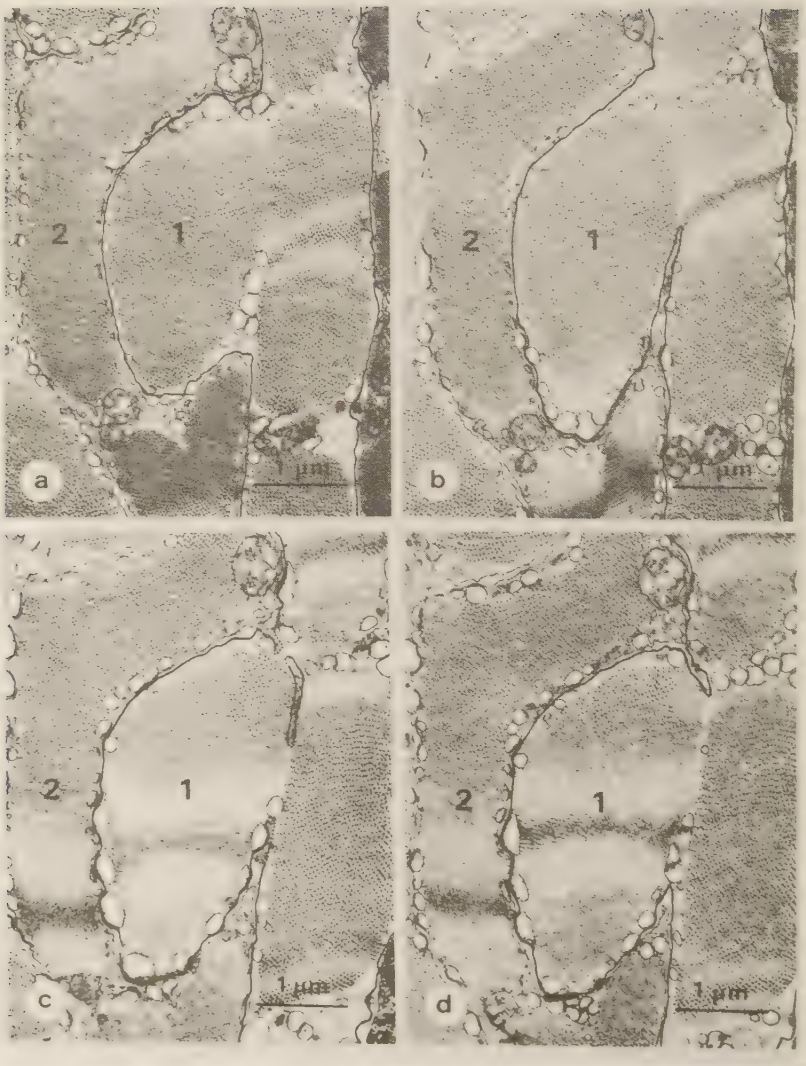
(d), (e) und (f) Markham-Rotation der quergeschnittenen Füßchen. Bilder der Füßchen wurden einer 4-fachen (d), einer 6-fachen (e) und einer 8-fachen Rotation nach Markham (f) unterworfen. Während die 4-fach rotierten Abbildungen ein klares quadratisches Muster lieferten, zeigten 6- bzw. 8-fache Rotationen ein diffuses Bild der Füßchen, d. h. die Symmetriewinkel $360^{\circ}/6$ und $360^{\circ}/8$ liegen offenbar nicht vor. 125 000 x.


a
1 µm
b
1 µm

Tafel 5

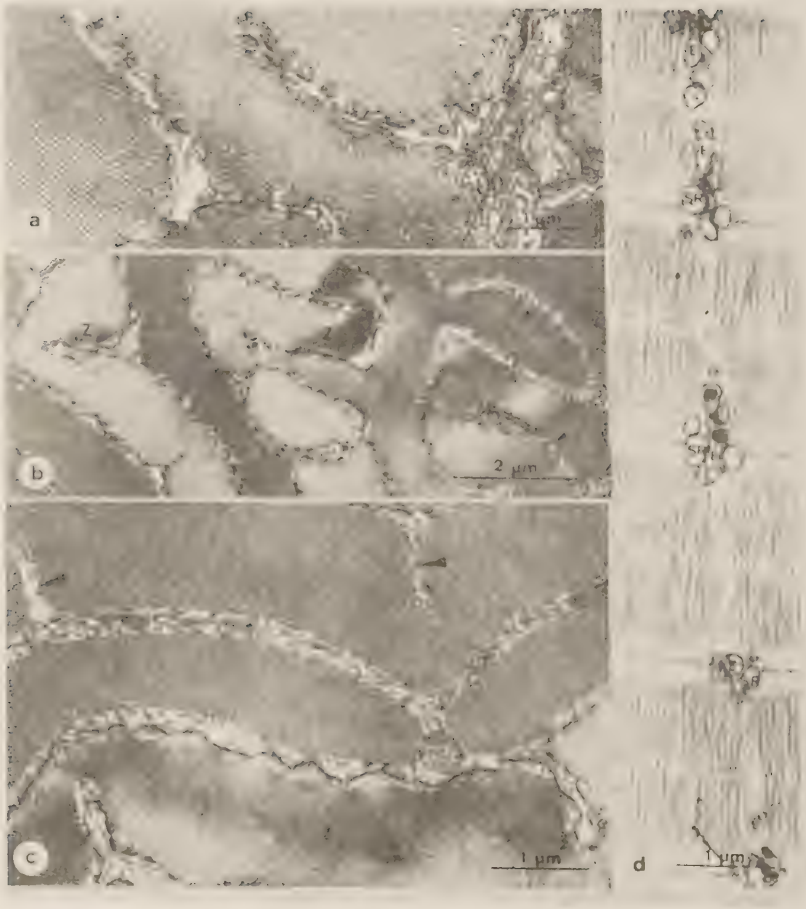
(a) Schnitt durch einen Kern. In der Doppelmembran der Kernhülle sieht man typische Kernporen (große Pfeile). Der Kern ist umgeben von einer Anzahl Vesikel und dünnen filamentösen Strukturen (kleine Pfeile). Die Pfeilspitze markiert ein Lysosom. 18 000 x.

(b) In der Nähe der Kerne liegen häufig Bruchstücke von Myofibrillen. Die Pfeilspitzen markieren filamentöses Material unterschiedlicher Struktur. 17 000 x.
L - Lysosom, N - Nucleus.


2
1
a
1 µm
2
1
b
1 µm
2
1
c
1 µm
2
1
d
1 µm

Tafel 6

4 aufeinander folgende Bilder aus einer Serie von Querschnitten, die einen Bereich von der Länge zweier Sarkomere erfaßten. In dieser Serie wurden 2 tunnelartige extrazelluläre Tubuli mit ähnlicher Struktur in einer Zelle gefunden. Diese Tubuli münden in den extrazellulären Raum mit einfachen trichterförmigen Öffnungen. Der eigentliche Tubulus läuft für 2 - 3 µm quer zur Längsrichtung der Zellen zwischen zwei benachbarten Myofibrillen von Zelle 1 hindurch. Diese Kanälchen sind umgeben von zahlreichen SR-Vesikeln. Zusätzlich werden sie von jeweils einem zytoplasmatischen Ausläufer von Zelle 2 begleitet. Zur Verdeutlichung wurde die Membran von Zelle 1 mit Tusche nachgezogen. 18 000 x.

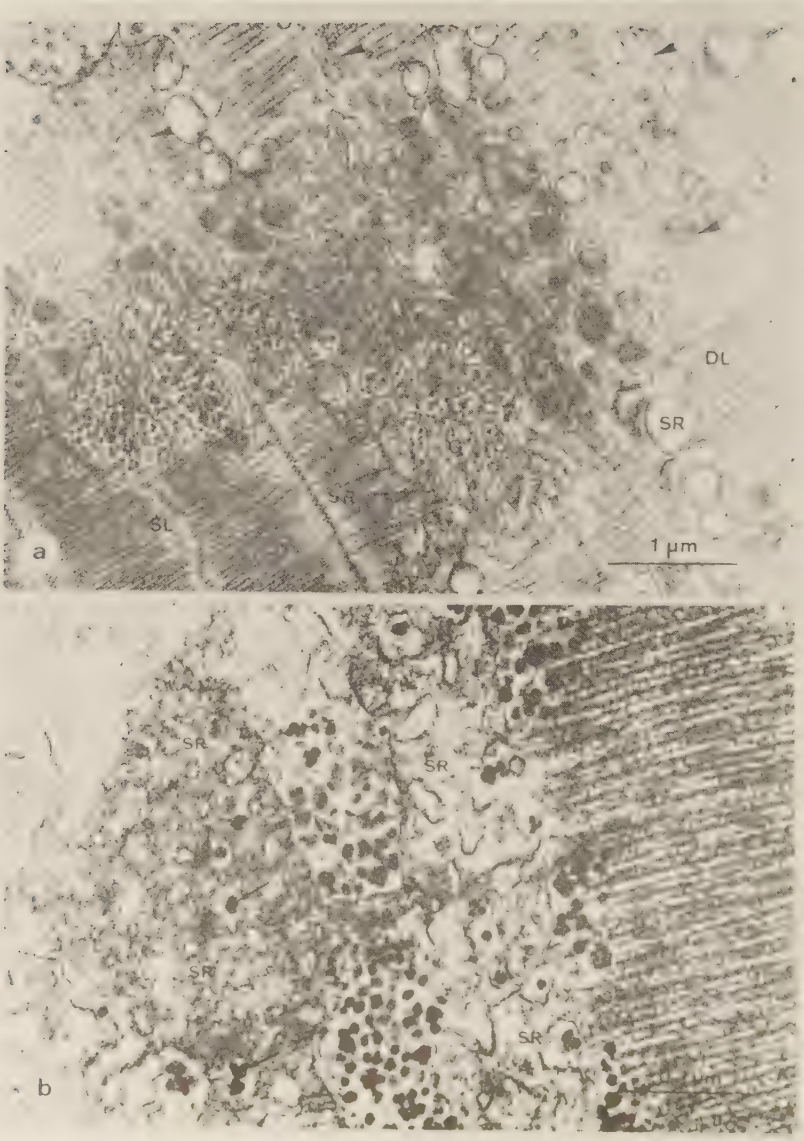

a
b
2 µm
c
1 µm
d
1 µm

Tafel 7

Querschnitte (a, b, c) durch die Basis der tiefen Lamellen. Hauptsächlich im Bereich der I-Bande findet man tiefe Einstülpungen der Zellmembran, die sich zwischen die Myofibrillen schieben und von einer Anzahl SR-Vesikel umgeben sind. Oft dringen zytoplasmatische Ausläufer der Nachbarzellen in diese Spalten ein. Auf der Höhe der A-Bande sieht man filamentfreie Spalten, die SR-Vesikel und Mitochondrien enthalten (Pfeile). Der Kreis in (a) markiert ein Desmosom zwischen den basalen Ausläufern der Muskellamellen. (a) - 15 000 x, (b) - 12 000 x.

(d) Flachschnitt durch eine tiefe Lamelle im Bereich extrazellulärer Kanäle. Die Kanäle haben einen stark abgeflachten Querschnitt und liegen auf Höhe der I-Bande. Sie sind von vielen SR-Vesikeln umgeben. 19 500 x.
E - extrazelluläre Tubuli.

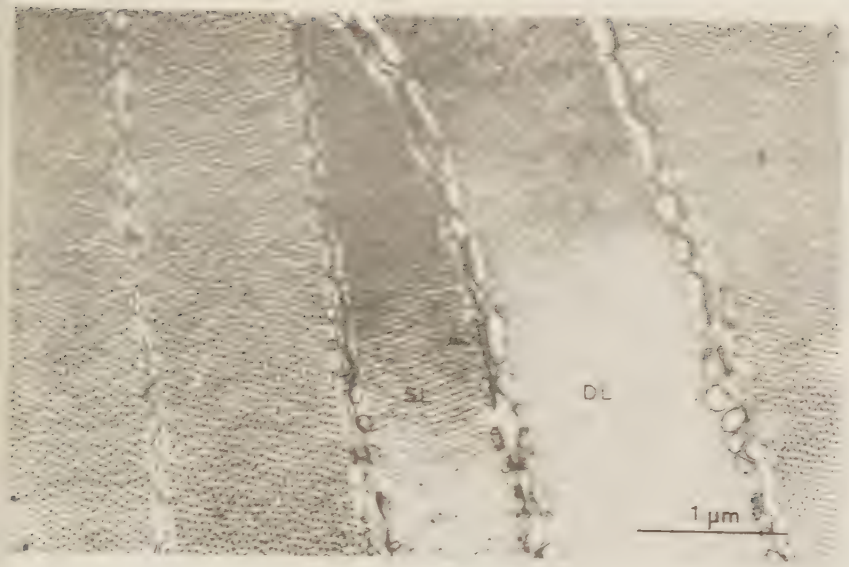
(c) Vergleich der Filament-freien Spalten in der A-Bande (Pfeile) und der Einstülpungen an der I-Bande der Myofibrillen. 19 000 x.
SR - sarkoplasmatisches Retikulum, Z - Z-Scheibe.


DL
SR
SL
a
1 µm
SR
SR
SR
SR
b

Tafel 8

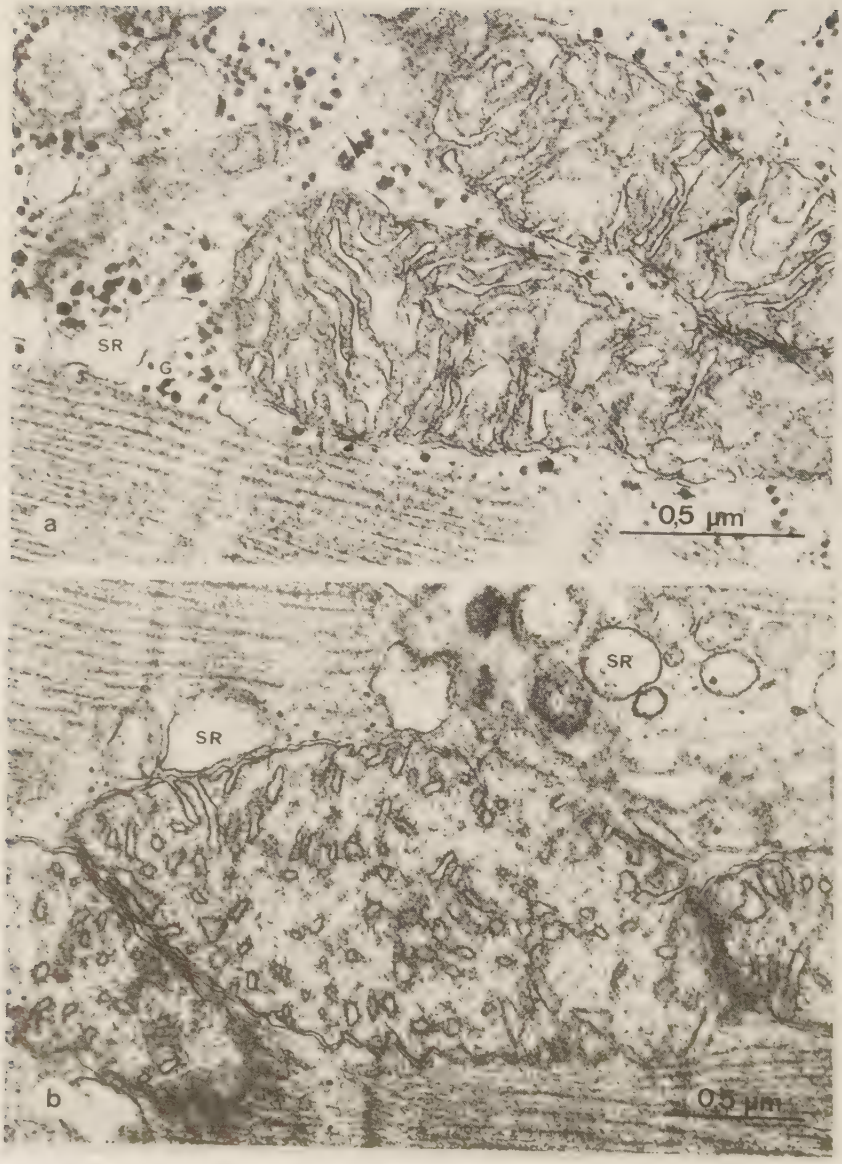
(a) SR der tiefen und superfiziellen Lamellen. Neben den großlumigen Vesikeln der tiefen Lamellen ist das feine tubuläre Netzwerk des SRs der superfiziellen Lamellen zu erkennen. Die Pfeilspitzen markieren extrafibrilläre Filamente. 25 000 x. DL - tiefe Lamelle, SL - superfizielle Lamelle, G - Glykogenpartikel.

(b) Flachschnitt durch das SR einer superfiziellen Zelle. Im Gegensatz zu den tiefen Lamellen besitzen die superfiziellen Zellen ein kontinuierliches, tubuläres SR-System mit relativ weitlumigen Zisternen auf der Höhe der I-Bande und dünneren Anteilen an der A-Bande. Beide Teile sind über SR-Brücken miteinander verbunden (Pfeilkopf). Das SR in den superfiziellen Lamellen bildet ein Netzwerk, welches die Myofibrillen bedeckt. Der intrazelluläre Raum außerhalb des SRs wird markiert durch die für diesen Zelltyp charakteristischen Glykogenpartikel (Pfeile). 83 000 x.



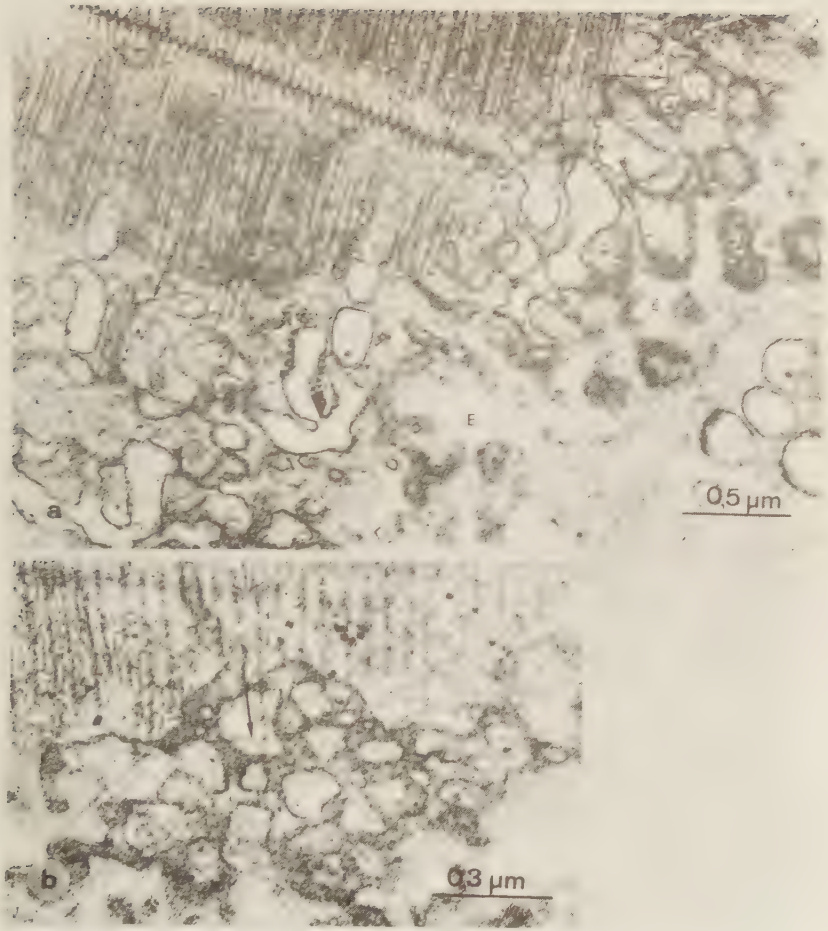
Tafel 9

Querschnitt durch eine superfizielle (SL) und mehrere tiefe Lamellen. Im Bereich der I-Bande der Myofibrillen sieht man in der tiefen Lamelle (DL) großlumige rundliche und ovale SR-Zisternen. In der superfiziellen Zelle dagegen findet man an der I-Bande flache tubuläre Strukturen. Diese enthalten granuläres Material (Pfeilköpfe). Im A-Banden-Bereich der tiefen Lamellen sieht man meist kleine und runde Vesikelanschnitte. 30 000 x.


SR
G
a
0,5 µm
SR
SR
b
0,5 µm

Tafel 10

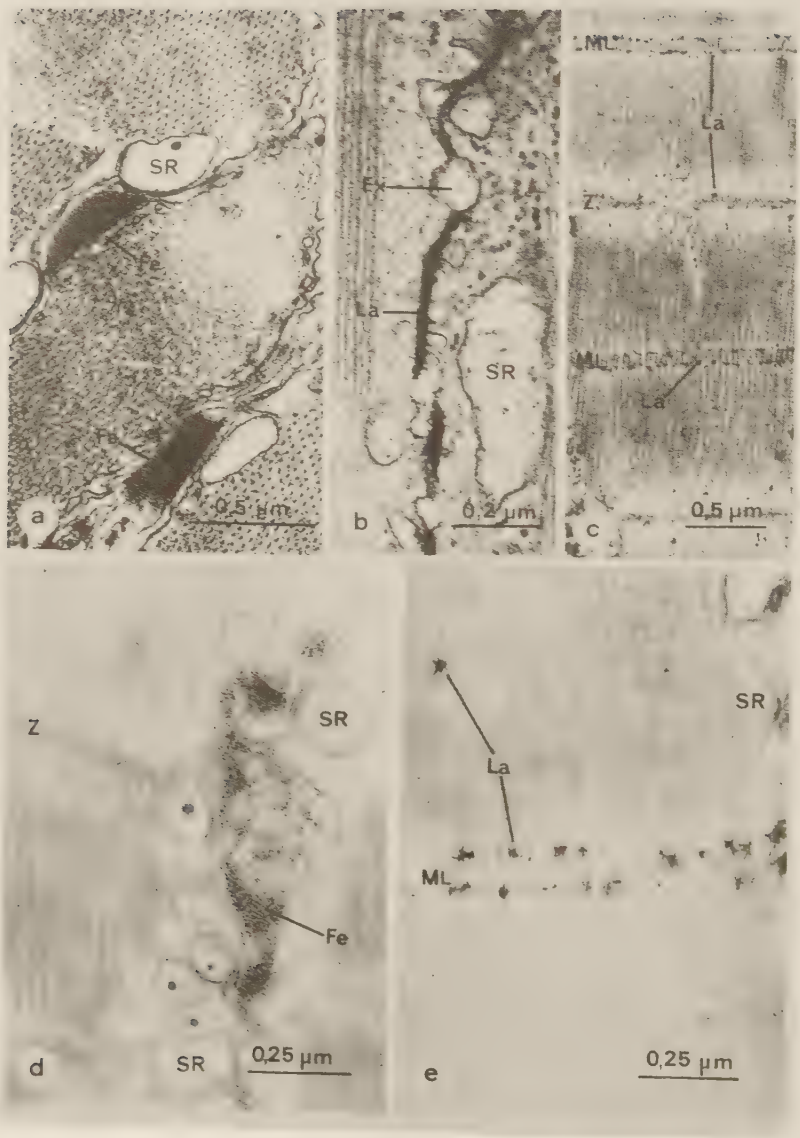
Mitochondrien der superfiziellen (a) und der tiefen Lamellen (b). Die Mitochondrien der superfiziellen Lamellen besitzen eine elektronendichte Matrix und sind vom Cristae-Typ. Im Gegensatz dazu sind die Mitochondrien der tiefen Lamellen durch eine Matrix und tubuläre Einstülpungen der Innenmembran charakterisiert.
(a) - 62 000 x, (b) - 55 000 x.
Beide Typen von Mitochondrien sind in der Regel in Längsrichtung der Myofibrillen orientiert und nicht selten bis zu 10 µm lang. Der Pfeil in (a) markiert intramitochondriale Partikel, der Pfeilkopf deutet auf Mikrotubuli.
G - Glykogenpartikel, SR - sarkoplasmatisches Retikulum.



Tafel 11

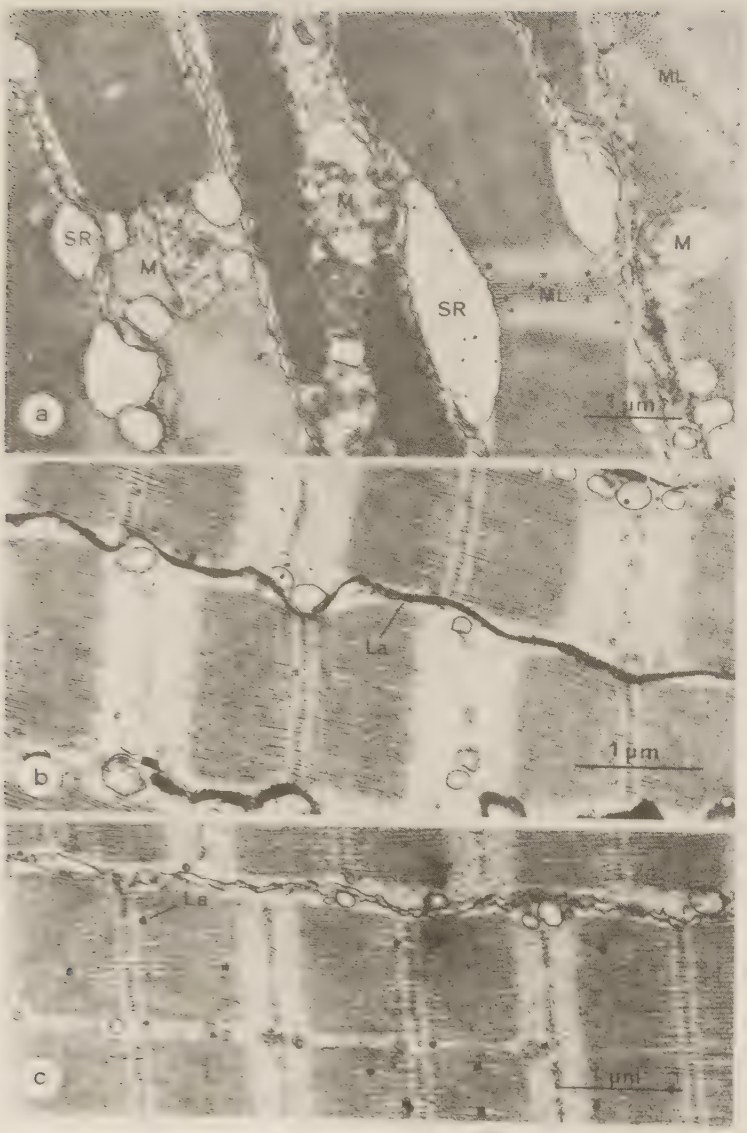
(a) SR einer intermediären Lamelle. Eine dritte Art von SR wurde innerhalb der intermediären Lamellen gefunden. Anhäufungen von SR-Zisternen, hauptsächlich in Muskellängsrichtung orientiert, sind untereinander durch ein loses Maschenwerk dünner Tubuli verbunden (Pfeile). Die Zisternen sind stellenweise miteinander gekoppelt (Pfeilspitzen).

(b) SR einer intermediären Lamelle. Im Gegensatz zu den flachen SR Bereichen der superfiziellen Zellen ist das verbindende Maschenwerk der intermediären Lamellen ein sehr weitmaschiges tubuläres Netzwerk. Der Pfeil markiert extrafibrilläre Filamente.
E - Extrazellulärraum.


SR
Fe
Fe
a
0,5 µm
Fe
La
SR
b
0,2 µm
ML
La
Z
ML
La
c
0,5 µm
Z
SR
Fe
d
SR
0,25 µm
SR
La
ML
e
0,25 µm

Tafel 12

Markerexperimente mit Lanthan (La) und Ferritin (Fe). Markerexperimente zeigten, daß die schmalen extrazellulären Spalten zwischen den Muskellamellen von Branchiostoma selbst für große Moleküle wie Ferritin (a) frei zugänglich sind. Während dieser Marker nur die großlumigen Anteile des Extrazellulärraums markierte, wurde der sehr viel kleinere Marker Lanthan selbst in engen Bereichen gefunden (b). Die SR-Vesikel (SR) waren immer frei von Markersubstanz. Im Gegensatz zu der Froschmuskelfaser war die Zellmembran der Muskellamellen in Branchiostoma permeabel für Lanthan. In der Regel konnten im intrazellulären Raum Lanthanniederschläge in der I-Bande und an der M- Linie (ML) gefunden werden. Zur Identifikation der Marker wurden sowohl kontrastierte (a, b, c) als auch unkontrastierte Schnitte untersucht (d, e). (a) - 50000 x, (b) - 137 500 x, (c) 32 000 x, (d) - 80 000 x.
Ex - extrazellulärer Raum, Z - Z-Scheibe.

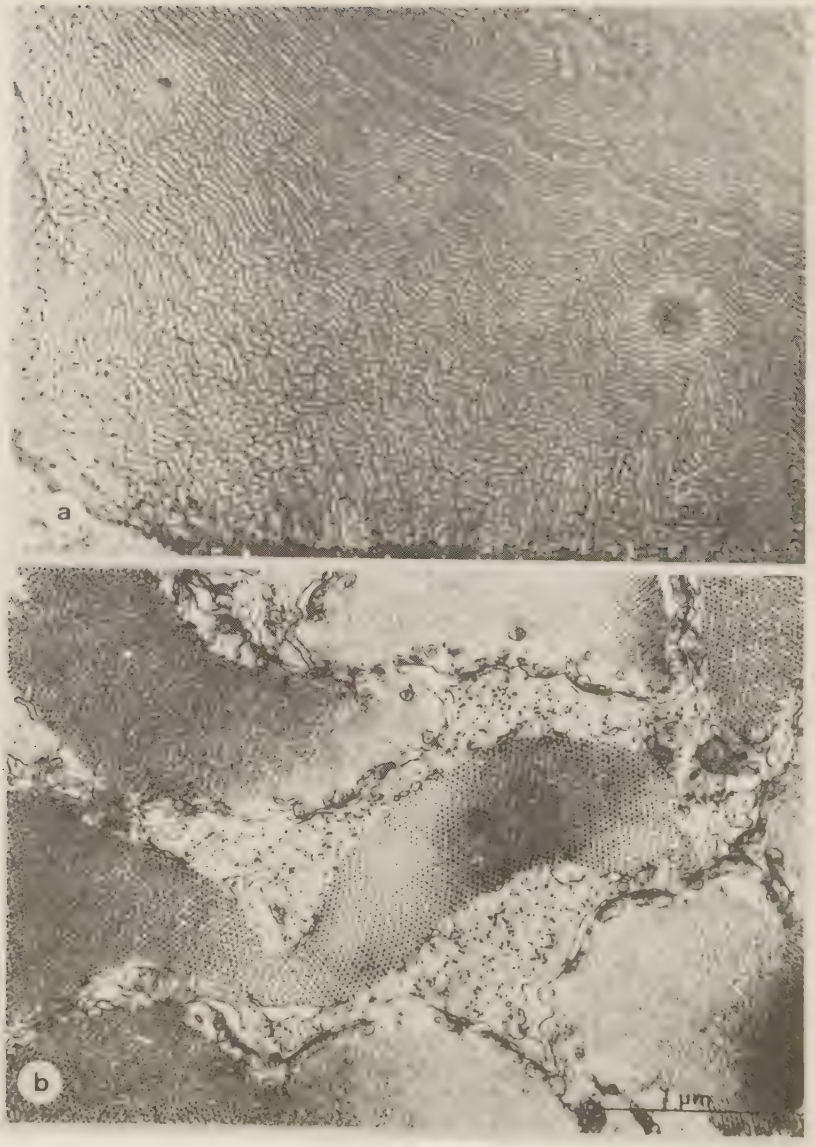

SR
M
M
SR
ML
ML
M
a
1 µm
La
b
1 µm
La
c
1 µm

Tafel 13

(a) Querschnitt durch einen mit Lanthan behandelten Rumpfmuskel. Die charakteristischen Lanthanniederschläge liegen in der Nähe der M-Linie (ML) und unterhalb der Zellmembran. Die dunkle superfizielle Zelle (S) zeigt keine Lanthanniederschläge innerhalb ihrer Fibrillen. In allen Zelltypen, die mit Lanthan behandelt worden waren, wurden die Mitochondrien (M) weitgehend beschädigt,und die SR-Vesikel verschmolzen miteinander zu großlumigen Säcken. 19 000 x.

(b) und (c) Einfluß von 2.4-Dinitrofluorbenzol (2.4-DNFB) auf die Lanthanniederschläge. Dieses Gift hemmt hauptsächlich die Kreatinkinase, ein Enzym, das u. a. ein Strukturprotein der M-Linie sein soll (WALLIMAN et al., 1977). Muskelgewebe von Branchiostoma, das mit 2.4-DNFB behandelt worden war, zeigte nicht länger die typischen sternchenförmigen Ausfällungen an der M-Linie. Intrazelluläres Lanthan wurde nur selten gefunden und war dann unregelmäßig verteilt und untypisch strukturiert (c), (b) und (c) - 25 000 x.

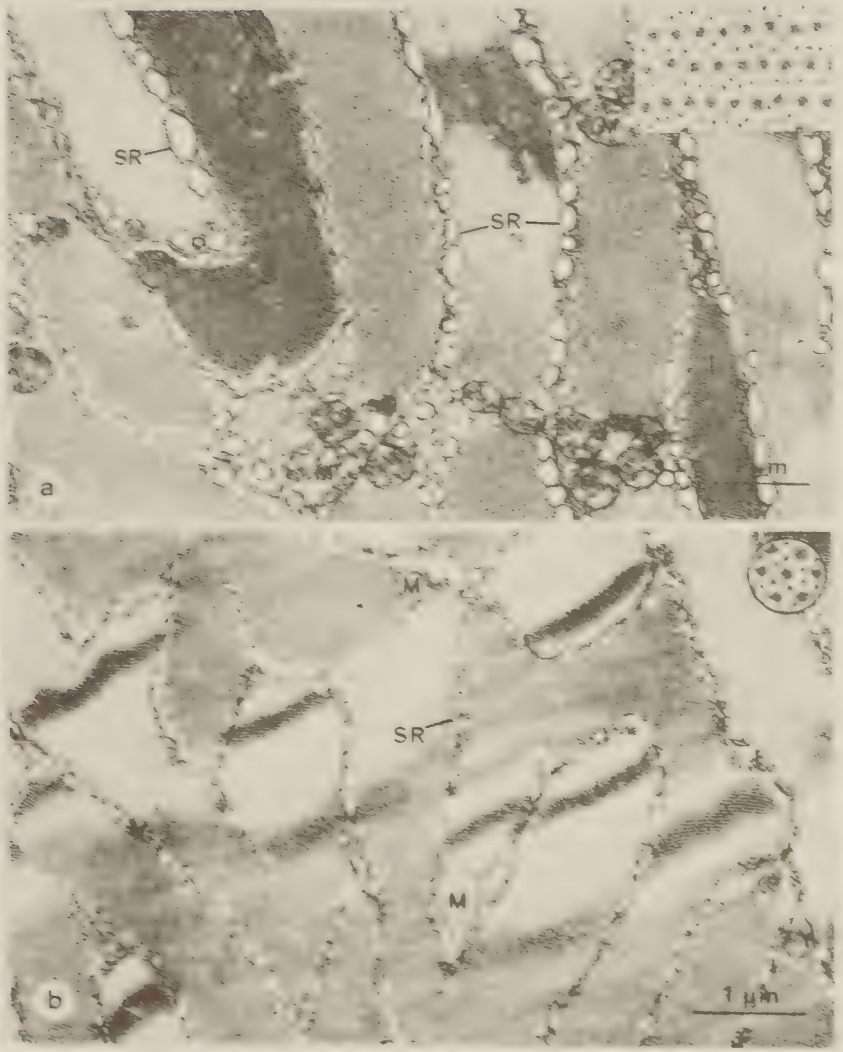
La - Lanthan.


a
b
1 µm

Tafel 14

Lichtmikroskopischer (a) und elektronenmikroskopischer Querschnitt (b) von der medialen Oberfläche (Basis) der Muskellamellen. Im lichtmikroskopischen Bild ist die Veränderung der in der Peripherie parallelen Zellen zu aufgefälteten Gebilden zu erkennen. Am linken unteren Bildrand ist die mediale Oberfläche des Myotoms zu erkennen. 1 000 x.

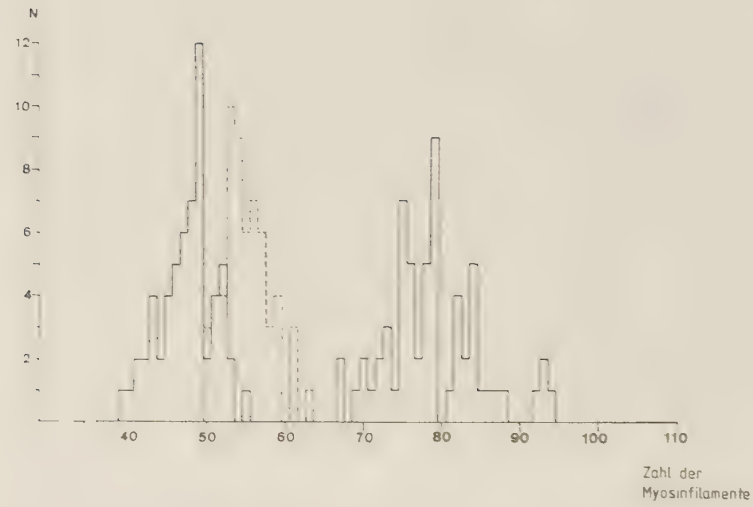
(b) Querschnitt der tiefen Lamellen von der medialen Oberfläche der Myotome. Das Bild zeigt Muskellamellen mit ausgeprägtem Sarkoplasma. Im Gegensatz zu den peripheren Bereichen der Lamellen ist im basalen Zellteil das Verhältnis von Zytoplasma zu Muskelfibrillen zum Teil stark erhöht. 34 500 x.


SR
SR
m
a
M
SR
M
1 µm
b

Tafel 15

Vergleich zwischen Lamellen aus der Peripherie der Rumpfmuskulatur (a) und der Zellbasis (b). (a) - 18 000 x, (b) - 22 000 x. Mehrere Unterschiede sind charakteristisch: 1. An der Zellbasis finden sich nur tiefe Lamellen. 2. Das Volumen der SR-Vesikel (SR) verringert sich von der Peripherie zur Zellbasis. 3. Die Größe und die Zahl der Mitochondrien (M) verkleinert sich zur Basis hin. 4. Die in der Peripherie länglich ovalen Myofibrillen haben an der Basis einen polygonalen gelappten Querschnitt.

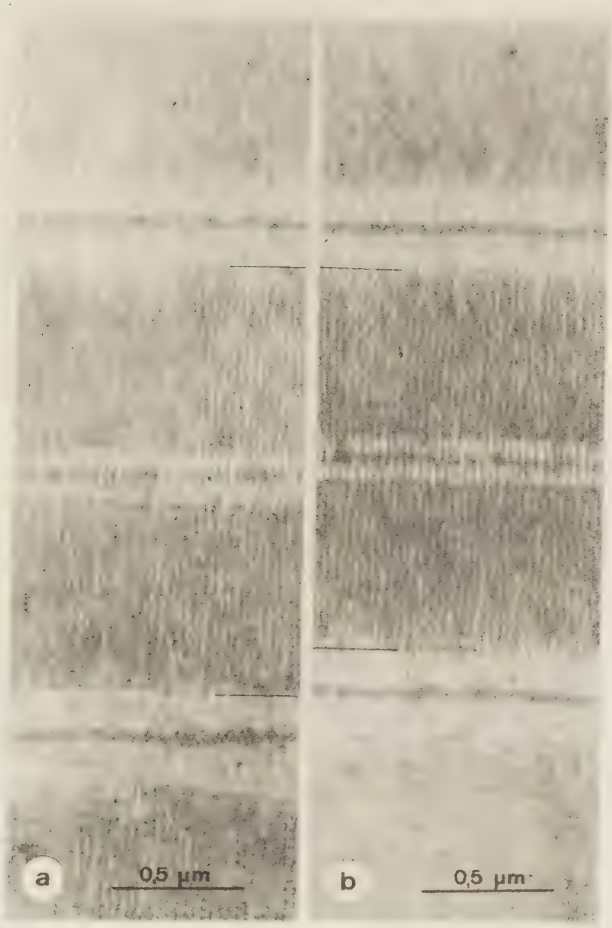
An der lateralen Oberfläche des Muskelgewebes besitzen die Myofibrillen oft parallele Reihen von Aktin- und Myosinfilamenten (Inset in (a)), während die Filamente an der Basis doppelt-hexagonal angeordnet sind (Inset in (b)). Vergrößerung der Insets: 140 000 x).
IL - intermediäre Lamelle, SL - superfizielle Lamelle.



Tafel 16

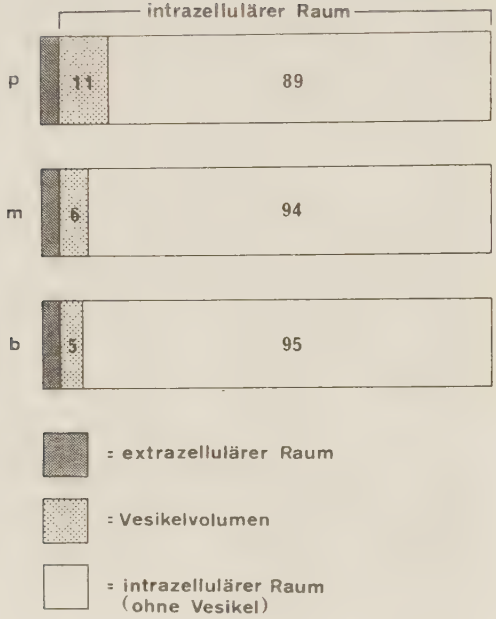
Innerhalb der tiefen Lamellen wurden unterschiedliche Filamentdichten gemessen: ein klarer Anstieg der Myosindichte von der Peripherie (erster peak) zur Zellbasis (letzter peak) wurde beobachtet. Die Filamentdichte stieg von der Peripherie zum Mittelteil der Zellen (unterbrochen gezeichneter peak) nur geringfügig an.

N = Zahl der Zählungen.



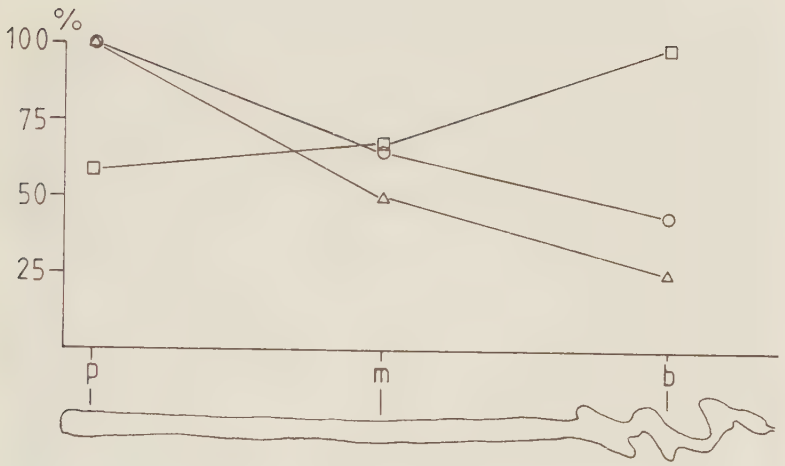
Tafel 17

Sarkomere aus der Basis (a) und der Peripherie der tiefen Lamellen (b). Sarkomere von der Basis zeigten generell eine breitere A-Bande als diejenigen aus der Peripherie. Dies bedeutet, daß die tiefen Lamellen an ihrer Basis längere Myosinfilamente besitzen. (a) zeigt basale Aktinfilamente, die um 13 % länger sind als die in (b). Beide Sarkomere sind nicht exakt in Längsrichtung geschnitten, erkennbar an den etwa 2 cm langen Anschnitten der Myosinfilamente, doch ist der Grad, mit dem sie schräg getroffen wurden, etwa gleich (die seitlichen Striche markieren die Grenze zwischen I- und A-Bande).



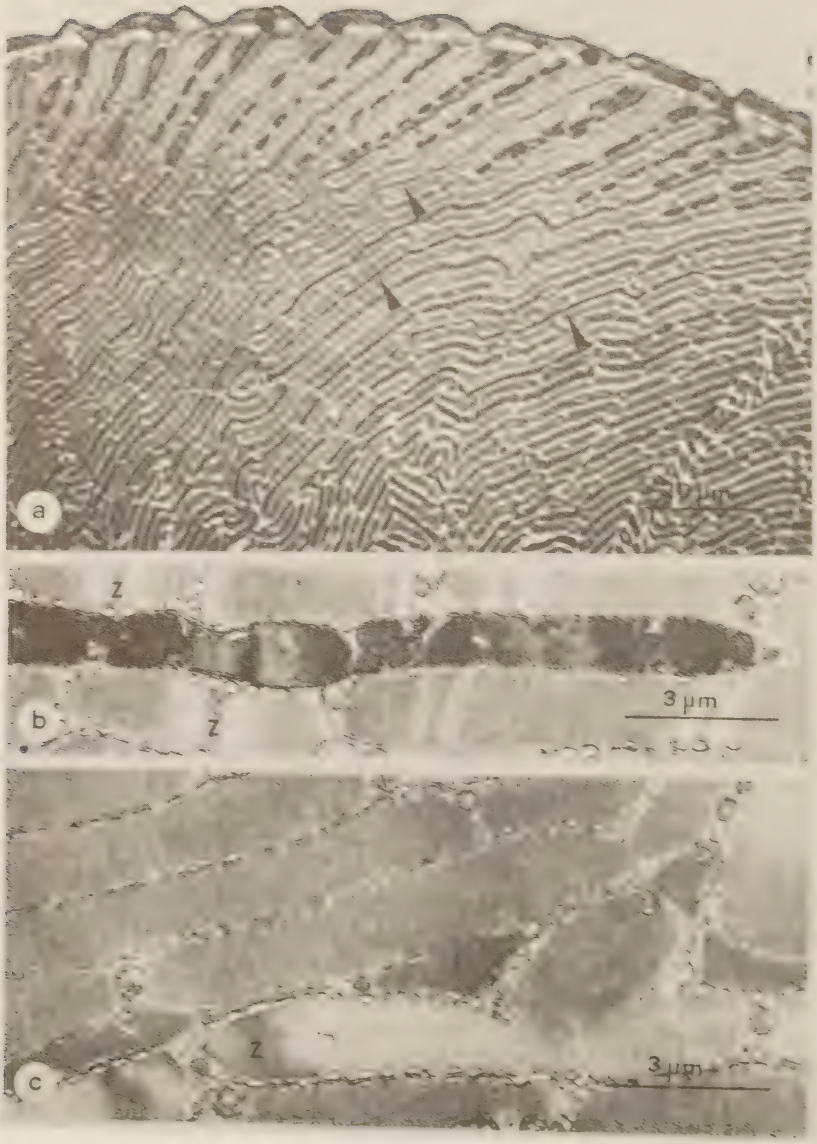
Tafel 18

Morphometrische Analyse der Rumpfmuskulatur in Branchiostoma. Der Extrazellulärraum und die SR-Vesikel der tiefen Lamellen wurden in drei unterschiedlichen Bereichen elektronisch ausgemessen: 1. in der Peripherie (p), 2. im Mittelteil (m) und 3. an der Basis (b) der Zellen.
Während der extrazelluläre Raum in allen Bereichen 4 % des Muskelvolumens einnahm, sank das Volumen der SR-Vesikel von 11 % in der Peripherie auf 5 % an der Basis.



Tafel 19

Die Zahl der Mitochondrien (△), das Volumen der SR-Vesikel (○) und die Dichte der Myosinfilamente (□) wurden in drei strukturell verschiedenen Bereichen der tiefen Lamellen gemessen: der Peripherie (p), dem Mittelteil (m) und der Basis (b). Von der Peripherie zur Basis verringert sich die Zahl der Mitochondrien und das Volumen der SR-Vesikel, während die Dichte der Myosinfilamente ansteigt.
Unter der Abszisse ist schematisch der Verlauf einer tiefen Lamelle eingezeichnet.


a
1 µm
b
Z
Z
3 µm
c
Z
3 µm

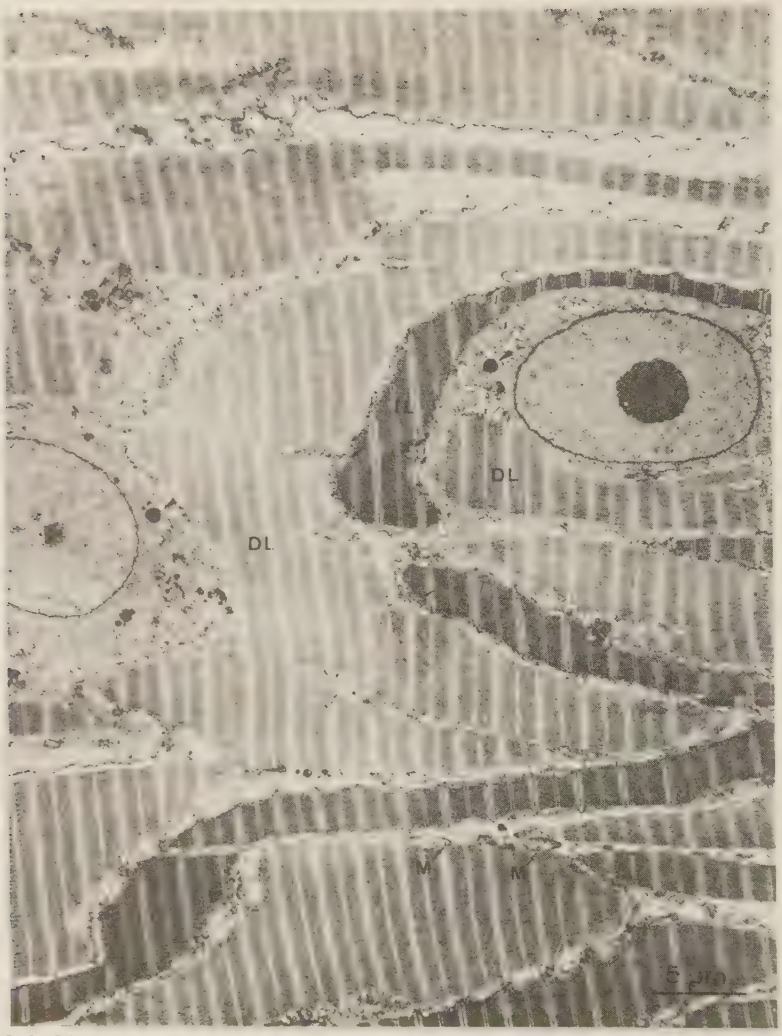
Tafel 20

(a) Lichtmikroskopischer Querschnitt durch die Pumpfmuskulatur. An der lateralen Oberfläche des Muskels liegen relativ kurze, dunkel gefärbte, sogenannten "superfiziellen" Muskelzellen. Der größte Teil des Muskels wird gebildet von den flachen, dünnen, sich durch das ganze Myotom erstreckenden sogenannten "deep" (tiefen) Lamellen. Neben diesen beiden gut definierten Zelltypen existiert in der Pumpfmuskulatur eine dritte Gruppe von Zellen, die in Größe und Farbe eine Stellung zwischen tiefen und superfiziellen Lamellen einnehmen, die "intermediären" Lamellen (Pfeile). 1 200 x.

(b) Elektronenmikroskopisches Bild einer superfiziellen Zelle. Auch im Elektronenmikroskop erscheint dieser Zelltyp dunkel. Diese Tatsache erklärt sich aus dem höheren Kontrast der Myofibrillen, die eine dichtere Packung an Filamenten besitzen (vgl. Kapitel: Myosindichten). Der interfibrilläre Raum enthält eine relativ große Anzahl an Mitochondrien und Glykogenpartikeln. Gegenüber den tiefen Lamellen ist das SR dieses Zelltyps reduziert. 9 500 x.

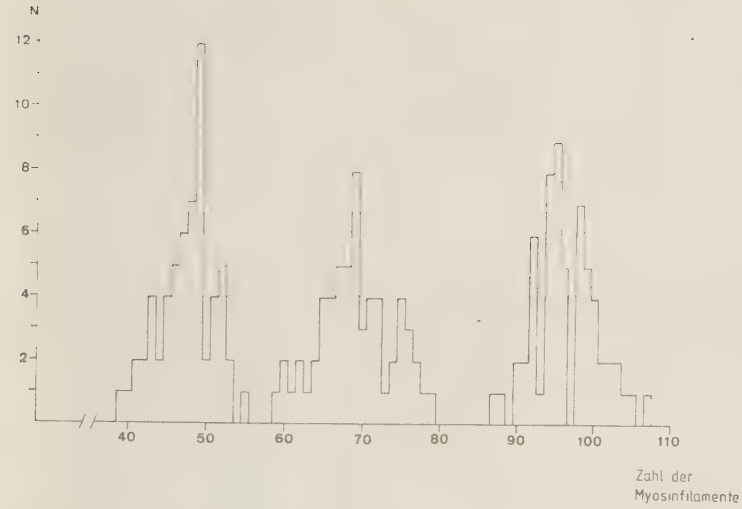
(c) Querschnitt einer intermediären Lamelle (I). Das Bild zeigt die typischen ungleichmäßig geformten Myofibrillen und die langen, dünnen Zytoplasmabrücken. 10 000 x.

Z - Z-Scheibe.



Tafel 21

Längsschnitt durch eine intermediäre (IL) und mehrere tiefe Lamellen (DL). Beide Zelltypen unterscheiden sich deutlich im Kontrast ihrer Fibrillen. Neben den Myofibrillen sind zwei Kernanschnitte der tiefen Lamellen zu erkennen. In ihrer Nähe liegen große Mengen Vesikel und einige Lyosomen (Pfeilköpfe). Die Pfeile markieren die weiten Zisternen des SRs der intermediären Lamelle. Man sieht deutlich, daß das Vorkommen der Zi- [illegible]
M - Mitochondrien.



Tafel 22

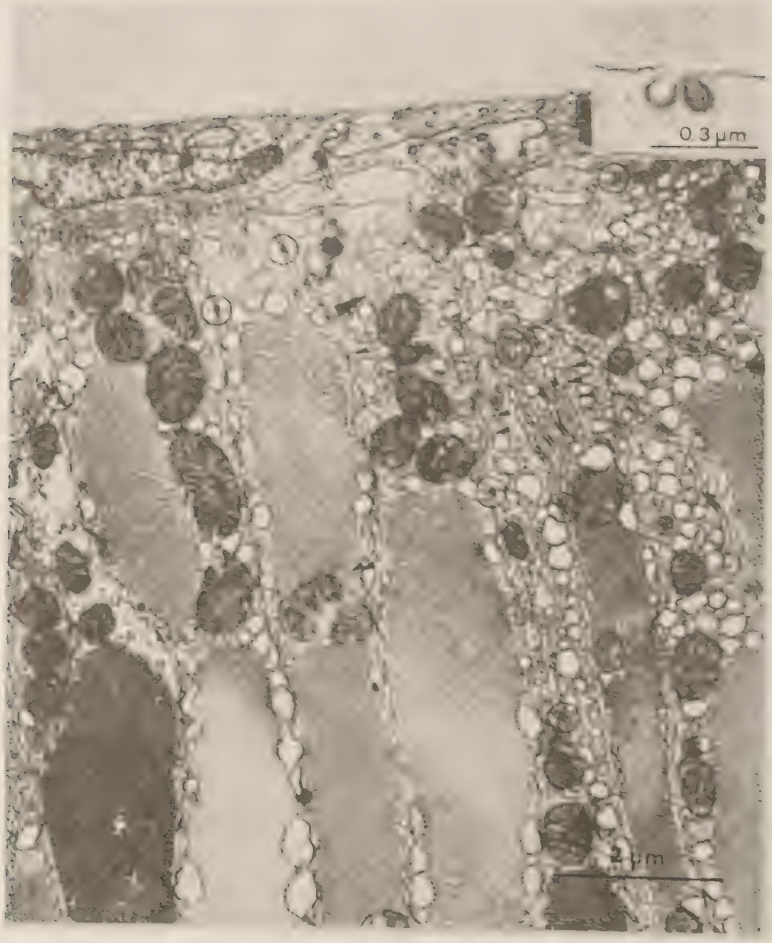
Der Myosinfilamentgehalt der tiefen, intermediären und superfiziellen Lamellen wurde in der Peripherie der Rumpfmuskulatur ausgezählt. Drei unterschiedliche Häufungen konnten unterschieden werden. Jede dieser Verteilungen repräsentierte einen Zelltyp. Die geringste Filamentdichte wurde in den tiefen Lamellen (erster peak) und die dichteste Packung in den superfiziellen Lamellen (letzter peak) gefunden. Der mittlere peak repräsentiert die intermediären Zellen.

N - Zahl der Zählungen.

a
0.5 µm
b
0.5 µm
c

Tafel 23

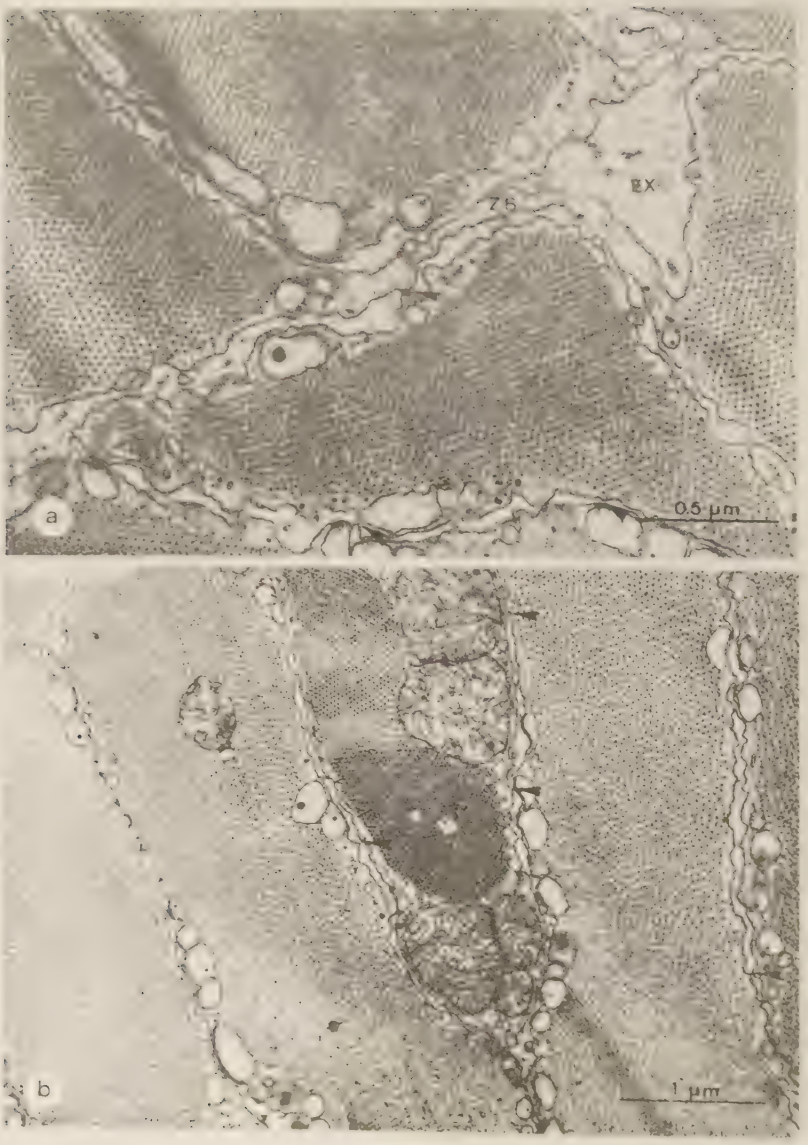
Sarkomere aus einer tiefen (a), einer intermediären (b) und einer superfiziellen Lamelle (c). Sämtliche Bilder stammen aus der Peripherie der Muskulatur. Die Länge der A-Bande variiert nur geringfügig. Die seitlichen Striche in (a) und (b) markieren die Grenze zwischen A- und I-Bande. Während die tiefen und intermediären Lamellen eine klare gerade Grenze zwischen den Banden zeigen, ist die Begrenzungslinie in den superfiziellen Zellen unregelmäßig (am besten zu erkennen am Verlauf der M-Linie). Die Z-Scheibe verläuft in allen Zelltypen gerade und ist prinzipiell gleich gebaut (Pfeilspitzen deuten auf Glykogengranula im intrafibrillären Raum der I-Bande und der H-Zone, die Pfeile markieren Brücken zwischen den Filamenten). 50 000 x.


0.3 µm
1 µm

Tafel 24

Querschnitt der lateralen Oberfläche der Rumpfmuskulatur. Der apikale Teil der Muskellamellen ist frei von Myofibrillen. Er enthält eine große Anzahl an Mitochondrien, SR-Vesikeln und Glykogenpartikel. Endozytische Einstülpungen der Zellmembran wie auf dem Inset wurden in diesem Teil der Zellen gefunden (Vergrößerung des Insets: 65 000 x).
Der große Pfeilkopf deutet auf Aktin-ähnliches Material, die kleinen Pfeilspitzen markieren einige quergeschnittene Mikrotubuli in den Kappen der Muskellamellen.

In ihrem apikalen Bereich sind die Zellen durch Desmosomen (Kreise) mechanisch miteinander verbunden. Zur lateralen Oberfläche hin schließt sich ein schmaler zellfreier Raum an, der im wesentlichen granuläres Material enthält. Dieser Spaltraum wird auf der entgegengesetzten Seite von einer Lage flacher Zellen begrenzt, deren Aufgabe wahrscheinlich in der Bildung des darüberliegenden Kollagens besteht. 16 500 x.


EX
TS
0.5 µm
a
b
1 µm

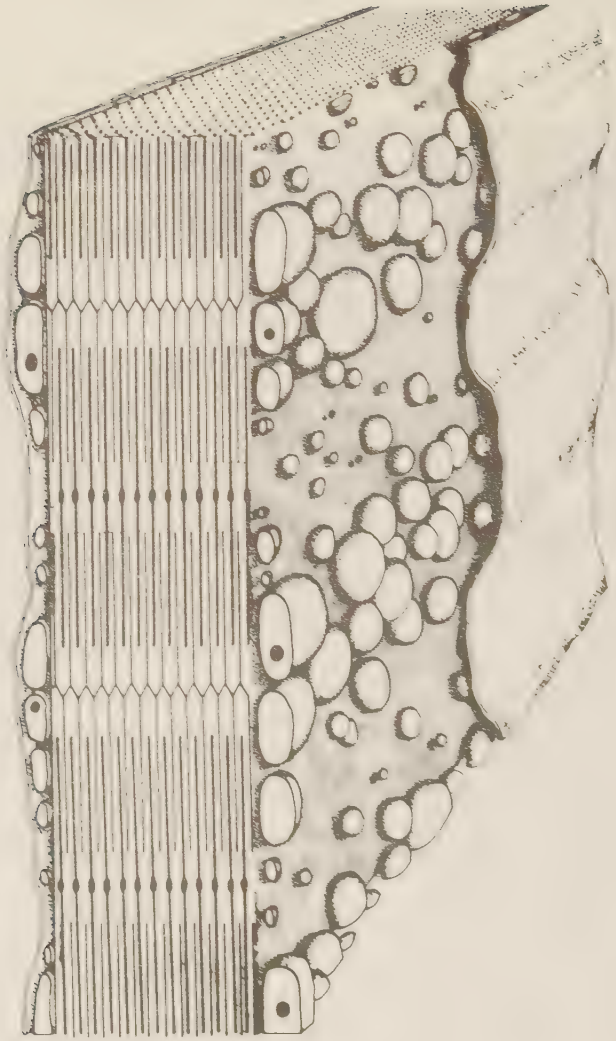
Tafel 25

Tiefe Lamellen aus dem Mittelteil (a) und der Peripherie (b) der Rumpfmuskulatur. Die Membranen der Nachbarzellen berühren sich im Verlauf der Muskellamellen häufig (Pfeilspitzen). In der Regel zeigen sie in diesen Arealen leichte Ausbeulungen in den Extrazellulärraum. In (a) sieht man zwei Fibrillen, die durch eine lange schmale Zytoplasmabrücke (ZB) miteinander verbunden sind. Der extrazelluläre Raum enthält in der Hauptsache granuläres Material. (a) - 56 000 x, (b) - 28 500 x.
SL - superfizielle Lamelle, EX - Extrazellulärraum.

SR
a
0,2 µm
SR
b
0,2 µm
A
SR
E
SR
c
0,2 µm

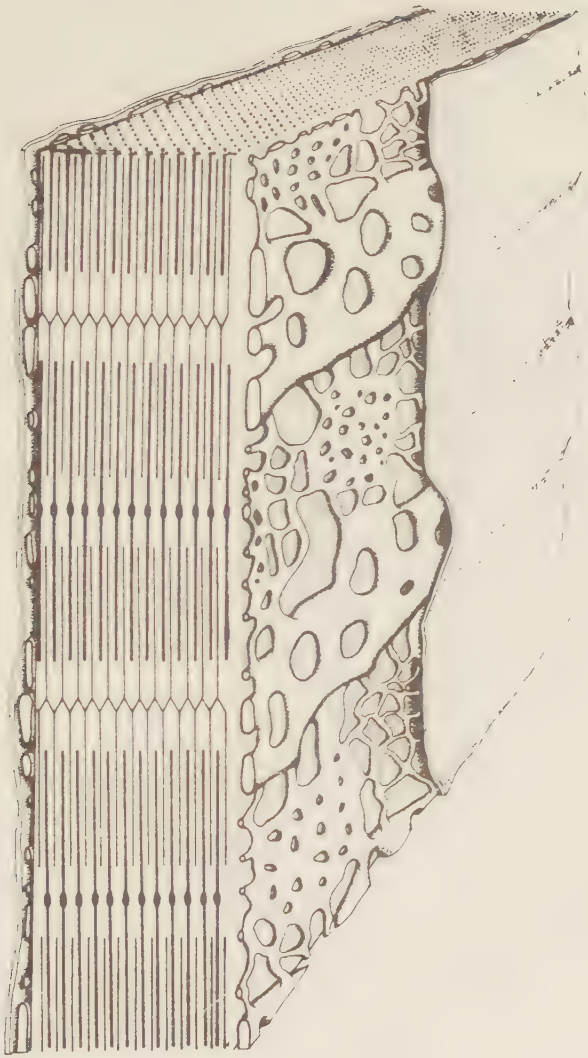
Tafel 26

Extrafibrilläre Filamente und Tubuli. Im Zytoplasma der Muskellamellen existieren neben den Myofilamenten zwei weitere Arten von Filamenten. Die meisten dieser Filamente laufen schräg oder quer zur Längsachse der Myofibrillen durch das Sarkoplasma (a, b). Eines der beiden Systeme besteht aus tubulären Elementen, die einen Durchmesser von ca. 25 nm haben. Sie zeigen regelmäßige Veränderungen in ihrem Durchmesser (Pfeilspitzen in b), wie sie für Mikrotubuli charakteristisch sind. Das andere System setzt sich aus sehr feinen Filamenten zusammen, die oft mit den Myosinfilamenten der Fibrillen assoziiert zu sein scheinen (c). (a) - 48 000 x, (b) - 140000 x, (c) - 140 000 x.
SR - sarkoplasmatisches Retikulum, My - Myosinfilament, E - extrazellulärer Raum, A - Aktinfilament.



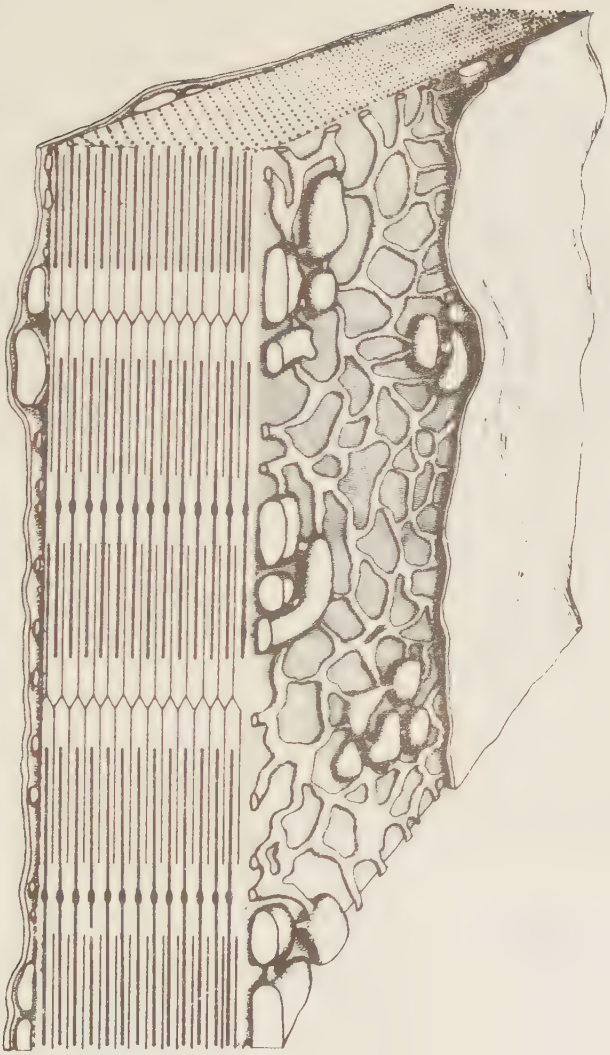
Tafel 37

Schema der Vesikelverteilung innerhalb der tiefen Lamellen
Während die meisten und größten Vesikel an der I-Bande und im nahen A-Banden-Bereich liegen, findet man in mittleren Sarkomerbereich sehr viel weniger und in der Regel kleinere SR-Vesikel.



Tafel 28

Schematische Darstellung des SRs einer superfiziellen Lamelle. Das SR bildet ein tubuläres Netzwerk, das den Myofibrillen aufliegt. Das System setzt sich demnach aus zwei morphologisch unterscheidbaren Bereichen zusammen, den großen Zisternen an der I-Bande und einem gefensterten flachen Anteil an der A-Bande. Auf der linken Seite sieht man Anschnitte dieser Bereiche, wie sie sich im einfachen Muskellängsschnitt darstellen.



Tafel 29

Schema der SR-Struktur in den intermediären Lamellen. Wie das SR der superfiziellen Zellen besteht das SR-System der intermediären Lamellen aus zwei Komponenten, den weitlumigen Zisternen und einem verbindenden dünnen tubulären Anteil. Ein Zusammenhang zwischen der Lage der Zisternen und der Sarkomerstruktur konnte in diesem Zelltyp nicht gefunden werden.

Tabelle 1

Myosingehalt unterschiedlicher Muskeltypen. Innerhalb eines weitgefächerten Spektrums von Tierarten wurde anhand von Muskelquerschnitten der Myosingehalt der entsprechenden Myofibrillen bestimmt. Die Tabelle zeigt, daß es bezüglich des Gehaltes an Myofilamenten große Unterschiede zwischen den einzelnen Muskeltypen gibt. Jeder in dieser Tabelle aufgelistete Wert ist ein Mittelwert aus mindestens drei Zählungen.

Tabelle 1 Myosindichten bei unterschiedlichen Muskeltypen

Myosin μm^2	Muskeltyp	Tiermaterial	Quelle
498	Skelettmuskel	Periplaneta americana	Smith, 1966
238	Ovar	Moskito	Franzini-Armstrong, 1964
493	Skelettmuskel "large accessory fibers"	Krebs	Eastwood, Wood & Reuben, 1978
495	Skelettmuskel "small accessory fibers"	Krebs	"
292	Skelettmuskel	Panzerkrebs	Brandt, Reuben et al., 1965
292	Skelettmuskel Zuckungsfaser (kurz)	Krebs	Franzini-Armstrong, 1970c
300	Zuckungsfaser (mittel)	"	"
475	langsame Faser	"	"
890	Skelettmuskel (weiße Fasern)	Fisch	Franzini-Armstrong, Porter, 1964
593	Flugmuskulatur (synchron)	Insekten	Smith, 1965
433	Flugmuskulatur (asynchron)	"	"
713	Herzmuskel	Säuger	Goldstein & Entman 1979
337	schräggestreift. Muskel	Ascaris	Rosenbluth, 1965
337	Zuckungsfaser	Krötenfische	Franzini-Armstrong, 1972a
770	extraokular Muskel	Frosch	"
1027	langsame Faser	Frosch	Franzini-Armstrong, 1973b
728	Zuckungsfaser	Frosch	Franzini-Armstrong, 1973a
1174	langsame Faser	Frosch	"

Die vorliegende Arbeit wurde am Lehrstuhl für Zellphysiologie der Ruhr-Universität Bochum unter Leitung von Herrn Professor H. Ch. Lüttgau durchgeführt. Ihm danke ich für die Überlassung des Themas und seine kritische Unterstützung während der Arbeit. Zahlreiche praktische Hinweise bekam ich von Herrn Dr. R. F. Foelix. Herrn Professor K. H. Andres danke ich für die Bereitstellung des MOP-AM-1 und Herrn Dr. U. Drenhaus für die fachliche Beratung bei statistischen Problemen. Für eine kritische Durchsicht und eine eingehende Diskussion der Ergebnisse sorgten Professor G. Beinbrech, Dr. C. Franzini-Armstrong und Dr. S. Page. Tatkräftig wurde ich von meinen Kollegen Dr. W. Spiecker, Dr. W. Melzer und M. Gomolla unterstützt. In KZS III sorgten R. Thieleczek und Dr. R. F. Foelix für meine körperliche Ausgeglichenheit. Mein Dank gilt auch Frau Bayreuther, deren Sorgfalt die rechtzeitige Reinschrift der Arbeit ermöglichte.

Lebenslauf

Geboren am	8.3.1951
in	4300 Essen
Schulbesuch von	1957 - 1961 Volksschule
von	1961 - 1969 Humboldt-Gymnasium Essen
Reifeprüfung am	10.6.1969 Humboldt-Gymnasium Essen
Wehrdienst von	1.7.1969 - 31.12.1970
Hochschulausbildung	
Immatrikulation am	9.10.1970 Ruhr-Universität Bochum Fach Biologie
Diplomprüfung am	22.9.1976
Promotion von	1976 - 1981 an der Abteilung für Biologie an der Ruhr-Universität Bochum

D. GRÄBNER
DISSERTATIONS U. OFFSETDRUCKEREI

Gotenstraße 3
8602 Altendorf bei Bamberg
Telefon: 09545 /8791